

**UNTERSUCHUNGEN ZUR INAKTIVIERUNG
DER INTESTINALEN HORMONE
SECRETIN UND CHOLECYSTOKININ**

Rainer Füllner

1975



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551925_0085

Aus der II. Medizinischen Klinik der Universität München
(Direktor: Prof. Dr. E. Buchborn)

UNTERSUCHUNGEN ZUR INAKTIVIERUNG
DER INTESTINALEN HORMONE
SECRETIN UND CHOLECYSTOKININ *)

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Rainer Füllner
aus Eschwege

München 1975

*) Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft,
Sta 120/3



Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität
München

Berichterstatter:	Prof. Dr. M. M. Forell
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. E. Buchborn
Dekan:	Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 15.4.1975

Meinen lieben Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. Einleitung	1
1.1 Inaktivierung von Secretin und Cholecystokinin	7
1.1.1 Secretin	7
1.1.2 Cholecystokinin	10
2. Methodik	12
2.1 Inkubation mit Blut	12
2.2 Inkubation mit Urin	13
2.3 Injektionen bzw. Infusionen in eine Pankreasarterie	13
2.4 Injektionen bzw. Infusionen in die V. portae	13
2.5 Injektionen in die A. renalis	13
2.6 Injektionen bzw. Infusionen in die V. femoralis vor und nach Unterbindung der Nierengefäße	14
3. Ergebnisse	16
3.1 Inkubation von Secretin mit Blut	16
3.2 Inkubation von Cholecystokinin mit Blut	16
3.3 Inkubation von Secretin mit Urin	19
3.4 Inkubation von Cholecystokinin mit Urin	20
3.5 Injektionen bzw. Infusionen von Secretin in eine Pankreasarterie	21
3.6 Injektionen bzw. Infusionen von Cholecystokinin in eine Pankreasarterie	22
3.7 Injektionen bzw. Infusionen von Secretin in die V. portae	23
3.8 Injektionen bzw. Infusionen von Cholecystokinin in die V. portae	24
3.9 Injektionen von Secretin in die A. renalis	25

3.10 Injektionen von Cholecystokin in die A. renalis	29
3.11 Injektionen bzw. Infusionen von Secretin in die V. femoralis vor und nach Unterbindung der Nierengefäße	32
3.12 Injektionen bzw. Infusionen von Cholecystokin in die V. femoralis vor und nach Unterbindung der Nierengefäße	35
3.13 Kinetik der Volumensekretion nach Secretin vor und nach Unterbindung der Nierengefäße	36
3.14 Berechnung der indirekten Halbwertszeit von Secretin vor und nach Unterbindung der Nierengefäße	36
4. Diskussion	41
4.1 Blut	41
4.2 Pankreas	41
4.3 Leber	43
4.4 Niere	44
5. Zusammenfassung	48
6. Tabellarischer Anhang	50
7. Literaturverzeichnis	65

1. EINLEITUNG

Es gibt in der Literatur eine Vielzahl von Arbeiten über das exokrine Pankreas und dessen stimulierende Hormone; das Thema der Inaktivierung von Secretin und Cholecystokinin wurde bisher jedoch ziemlich spärlich behandelt. Die wenigen Arbeiten, die sich mit diesem Thema befaßten, kamen - möglicherweise bedingt durch die Wahl der Versuchsanordnung - zu unterschiedlichen, teilweise sogar widersprüchlichen Ergebnissen, so daß bis heute keine klare Aussage über Ort und Art der Inaktivierung von Secretin und Cholecystokinin getroffen werden kann. Die vorliegende Arbeit soll an ein und demselben Modell zur Klärung dieser Frage beitragen.

Die Polypeptide Secretin und Cholecystokinin gehören zur Gruppe der gastrointestinalen Hormone. Sie besitzen eine stimulierende Wirkung auf das exokrine Pankreas. Secretin stimuliert dort ausschließlich die Schaltstück-, Isthmus-epithel- und zentroaziniären Zellen, welche Wasser und Elektrolyte sezernieren. Nach Secretinstimulation wird deshalb wasser- und bikarbonatreiches, jedoch enzymarmes Pankreassekret erhalten (hydrokinetische Wirkung des Secretins) (HARPER 1967).

Cholecystokinin hingegen setzt Enzyme und Eiweiß aus den Azinuszellen frei. Nach Cholecystokinin kommt es nur zu einer geringen Volumensekretion, die aber einen hohen Gehalt an Eiweißen und Enzymen aufweist (ekbolische Wirkung des Cholecystokinins) (HARPER 1967). Zusammen mit Secretin injiziert steigert Cholecystokinin die hydrokinetische Wirkung dieses Hormons.

Bereits 1902 wurde Secretin als erstes der gastrointestinalen Hormone in Dünndarmextrakten entdeckt (BAYLISS und STARLING 1902). Es dauerte jedoch noch weitere 60 Jahre bis es JORPES et al. gelang, Secretin in chemisch reiner Form darzustellen (JORPES et al. 1962). Secretin ist ein Polypeptid, das aus 27 Aminosäuren aufgebaut ist und ein Molekulargewicht von 3056 hat. Wegen vier Arginin-, einem Histidinrest, der Amidierung der γ -Carboxylgruppe von 2 der 3 Glutaminsäureeinheiten ist das Molekül basisch. Zu den chemischen Besonderheiten gehört, daß keine schwefelhaltigen Aminosäuren eingebaut sind. Es fehlen also Cystein, Cystin, Methionin, Thyrosin, Tryptophan, Lysin, Prolin und Isoleucin (MUTT und JORPES 1971a).

Außerdem zeigt die Sequenz der Aminosäuren des Secretins eine auffallende Ähnlichkeit mit der des aus 29 Aminosäuren bestehenden Glukagons. 14 Aminosäuren befinden sich in gleicher Position. Optische Untersuchungen von BODANSZKY et al. (1969) mittels Rotationsdispersion und Cirkulardichroismus ergaben, daß das Secretinmolekül zwischen Position 5 und 13 in Helixform vorliegt. Diese Konformation wird durch die beiden Enden des Moleküls stabilisiert. Diese Beobachtungen von BODANSZKY et al. bieten eine mögliche Erklärung dafür, daß die biologische Aktivität des Secretins an die Intaktheit des gesamten Moleküls gebunden ist (GROSSMAN 1969).

Eine Inaktivierung des Secretins könnte also rein theoretisch durch die Spaltung irgendeiner Peptidbindung oder durch bloße Veränderung der räumlichen Struktur erfolgen.

Cholecystokinin wurde erst 26 Jahre nach Secretin entdeckt. Nach Verabreichung roher Secretinextrakte aus der Dünndarmschleimhaut beobachteten IVY und OLDBERG (1928) eine Kontraktion der Gallenblase. Sie nannten das nun entdeckte Hormon wegen seiner Wirkung Cholecystokinin. Weitere 15 Jahre später isolierten HARPER und RAPER (1943) ebenfalls aus Dünndarmextrakten ein Hormon mit ekbolischer Wirkung auf das exokrine Pankreas und nannten es Pankreozymin. Durch Fortschritte in der Präparation konnten JORPES und MUTT (1966, 1970) und MUTT und JORPES (1968a) eindeutig zeigen, daß es sich bei Cholecystokinin und Pankreozymin um ein und dasselbe Hormon handelt, welches heute nur noch Cholecystokinin, kurz CCK, genannt wird (GROSSMAN 1971).

Wie Secretin, so ist auch Cholecystokinin ein lineares Polypeptid. Es ist aus 33 Aminosäuren aufgebaut und hat ein Molekulargewicht von 3919 (GRAY 1967). Das N-terminale Ende weist einen Lysinrest auf, das C-terminale ein amidiertes Phenylalanin (MUTT und JORPES 1968b, 1971b).

Im Gegensatz zu Secretin, das nur als Gesamtmolekül biologisch wirkt, ist die biologische Aktivität von CCK an das C-terminale Ende des Moleküls gebunden (JORPES und MUTT 1970). Das C-terminale Oktapeptid hat, bezogen auf Gewichts-basis (allerdings nicht auf Molekülbasis), eine zehnfach stärkere ekbolische und cholecystokinetische Wirkung als das Gesamtmolekül. Ein wirksames Inaktivierungssystem müßte das Molekül also gezielt am C-terminalen Ende angreifen oder es soweit zerstören, daß auch das C-terminale Ende gespalten wird, es sei denn, CCK wird als intaktes Molekül über Niere, Darm oder Galle ausgeschieden.

Das C-terminale Pentapeptid des Gastrins, dem dritten gastrointestinalen Hormon, ist identisch mit dem von CCK. Auch beim Gastrin ist die biologische Aktivität an das C-terminale Ende gebunden.

Der Weg des endogenen Secretins und Cholecystokinins von der Synthese bis zum Erfolgsorgan beginnt im oberen Dünndarm. Die Synthese der beiden Hormone vollzieht sich zum größten Teil im Duodenum und oberen Jejunum, die des Secretins in sogenannten S-Zellen (smaller granule cells) (POLAK et al. 1971), die des Cholecystokinins vermutlich in sogenannten I-Zellen (intermediate granule cells) (BUSSOLATI et al. 1971). Eine "secretin and cholecystokinin-like activity", die man bei Antrumextrakten des Magens beobachtete, wird heute dem Gastrin zugeschrieben (PRESHAW und GROSSMAN 1965). Secretin und Cholecystokinin werden durch den Eintritt des sauren Chymus (HCl, Aminosäuren, Fette) freigesetzt. Möglicherweise steht diese Freisetzung unter cholinerg nervaler Kontrolle. Die Hormone gelangen nun über die V. portae in die Leber, von wo aus sie via V. hepatica - V. cava inferior den großen Kreislauf verlassen. Nach Durchlaufen des kleinen Kreislaufs erreichen sie über die Pankreasarterie ihr Erfolgsorgan, das exokrine Pankreas.

Der Weg der exogen zugeführten Hormone (z.B. Injektion in die V. femoralis) gleicht dem der endogen freigesetzten; nur mit dem Unterschied, daß die injizierten Hormone unmittelbar nach Verabreichung nicht die Leber passieren, sondern direkt über die V. cava zum Herzen gelangen.

Das nach intravenöser Gabe von Secretin erhaltene Sekretionsvolumen verhält sich proportional zum Logarithmus der injizierten Dosis (GROSSMAN 1958). Wird diese Beziehung

zwischen Dosis und Volumen graphisch dargestellt, so erhält man eine Dosis-Wirkungskurve. Diese zeigt den Verlauf einer typischen biologischen Wirkungskurve (LEHNERT 1970a).

Dasselbe Verhalten wie das Volumen zeigt die Bikarbonatsekretion. Auch hier wird eine Dosis-Wirkungskurve erhalten, die den gleichen Gesetzmäßigkeiten unterliegt (PETERSEN 1970).

Keine Dosis-Wirkungsbeziehung besteht jedoch, wenn die Eiweiß- und Enzymsekretion mit der Secretindosis verglichen werden. Trotz unterschiedlich hoher Dosis und der dadurch bedingten Änderung der Volumina bleibt die jeweils ausgeschiedene Enzym- und Eiweißmenge annähernd gleich.

Eine Ausnahme dazu bildet lediglich das sogenannte "washing-out" Phänomen, das bei Spezies mit geringer oder fehlender Basalsekretion anzutreffen ist (BABKIN 1950). Darunter versteht man die relativ hohen Eiweiß- und Enzymmengen nach einer Secretininjektion, der eine längere Ruhepause vorausgegangen ist. HUBEL (1972) erklärt dies mit dem Auswaschen der Enzyme aus den Lumina der Azini und des Gangsystems.

Nach Gabe von Cholecystokinin besteht eine Proportionalität zwischen der ausgeschiedenen Enzymmenge und dem Logarithmus der injizierten Dosis. Auch hier resultiert eine Dosis-Wirkungskurve (LEHNERT 1970a). Die einzelnen Enzyme, wie z.B. Trypsin, Amylase und Lipase, sind sowohl zueinander als auch zur Proteinsekretion korrelierbar (HELLMANN 1970).

Die hydrokinetische Wirkung des Cholecystokinins reicht beim Hund nicht zum völligen Ausschwaschen der Enzyme aus. Es muß daher im biologischen Versuch eine gleichzeitige Stimulation mit Secretin erfolgen.

Die Kinetik der Pankreassaftsekretion nach Secretininjektion, d.h. die Änderung des Volumens in der Zeiteinheit, wurde von LEHNERT et al. (1972) definiert. Nach einer Latenzzeit von 30-60 Sekunden, die durch den Weg des Secretins vom Injektionsort zum Erfolgsorgan bestimmt wird, kommt es zu einem Anstieg der Sekretionsrate, welche nach 1-2 min ihr Maximum erreicht. Nach Durchlaufen eines Wendepunktes erfolgt der Abfall in Form einer Exponentialfunktion. Bei Spezies ohne Basalsekretion, wie z.B. dem Hund, kann das Ende einer Reizantwort exakt bestimmt werden. Ähnliche Ergebnisse finden sich bei CLARK et al. (1967).

Eine maximale Sekretionsrate, die individuell verschieden ist, kann trotz Steigerung der Dosis nicht überschritten werden. Eine weitere Erhöhung der Dosis drückt sich in einer Verlängerung des Plateaus (maximale Sekretionsrate) und einem flacheren Abfall der Sekretionsverlaufskurve aus (LEHNERT 1970a). Damit kommt es insgesamt zu einer Verlängerung der Reizdauer (HICKSON 1970).

Die Kinetikkurven nach Injektion von Cholecystokinin zeigen analoge Verläufe. Das Erreichen der maximalen Enzymsekretionsrate geht mit einer Steigerung der Volumina einher. Der Abfall sowohl der Eiweißmengen als auch der Eiweißkonzentrationen folgt einer Funktion I. Ordnung (LEHNERT et al. 1970b). Bei Infusionen von Secretin (FAWCETT 1970) oder Cholecystokinin (STENING und GROSSMAN 1969; LEHNERT 1970a) ist die "konstante" Volumen- bzw. Enzymsekretionsrate proportional dem Logarithmus der in der Zeiteinheit infundierten Dosis.

1.1 Inaktivierung von Secretin und Cholecystokinin

1.1.1 Secretin

Die biologische Halbwertszeit wird als die Zeitspanne definiert, in welcher der Blutspiegel eines Stoffes auf die Hälfte absinkt (DOST 1968). Da es jedoch bislang nicht möglich ist, Secretin im Blut direkt zu bestimmen, soll hier die von LEHNERT (1970a) angeregte Definition der "indirekten Halbwertszeit" zugrunde gelegt werden: "Die indirekte Secretinhalbwertszeit entspricht der Zeitspanne, in der die Aktivität von Secretin, gemessen am Parameter der Pankreassekretion und transformiert über die Dosis-Wirkungskurve, um die Hälfte abnimmt".

Da die Halbwertszeit nach dieser Definition über den Parameter der Volumensekretion bestimmt wird, muß neben der Höhe der Dosis die Verteilung des Hormons in Plasma und Extrazellulärflüssigkeit berücksichtigt werden. Auch unterschiedliche Reinheitsgrade des Secretins oder Speziesdifferenzen können zu verschiedenen Ergebnissen führen. So ist es vielleicht zu erklären, daß auf der einen Seite LEHNERT et al. (1969, 1970a, 1972) und CLARK et al. (1967) eine Halbwertszeit von 3,2 min beim Hund bzw. 3,3 min bei der Katze ermittelten, HICKSONS's Halbwertszeit beim Schwein zwischen 3 und 4 min liegt (HICKSON 1970), auf der anderen Seite aber LAGERLÖF et al. (1962) die beim Menschen gefundene Halbwertszeit mit 17,9 min angeben.

Einen bedeutenden Faktor für die Halbwertszeit stellt die Inaktivierung dar. Da es sich bei Secretin um ein Polypeptid handelt, kann es von proteolytischen Enzymen gespalten werden.

Bereits 1937 berichteten AGREN und HAMMERSTEN (1937) von einer Labilität des Secretins in Anwesenheit proteolytischer Enzyme. Ihren Angaben zufolge wurden von Aminopolypeptidasen 10 Peptidbindungen gespalten, wohingegen Carboxypeptidasen keine Wirkung gezeigt haben sollen. Ebenfalls für die Inaktivierung durch Proteolyse sprechen die Angaben von ROGERS (1951) und BRIDGEWATER et al. (1962). In neuerer Zeit wurde eine Proteolyse des Secretinmoleküls durch Trypsin und Thrombin glaubhaft und reproduzierbar nachgewiesen (MUTT und JORPES 1968a, b).

Somit müssen die Annahmen von GREENGARD et al. (1944), die eine spezifische "Secretinase" nicht proteolytischer Natur postulierten, als überholt betrachtet werden.

Von NECHELES et al. (1959), SKILLMANN et al. (1962), BRIDGEWATER et al. (1962), WAY et al. (1969) und CHEY et al. (1971) wurde ein Abbau von Secretin in der Leber angenommen. So berichteten NECHELES et al. (1959) über eine Secretinase in der Leber, da sie bei Injektionen in die V. portae eine geringere Reizantwort erhielten als nach Injektionen in eine periphere Vene. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangten SKILLMAN et al. (1962).

BRIDGEWATER et al. (1962) gingen zum ersten Mal von der Ansicht ab, daß es sich um eine spezifisch wirksame Secretinase handelt. Sie isolierten zwar auch aus Leber- und Nierengewebe ein Enzym, welches nach 10minütiger Inkubation mit Secretin einen Inaktivierungseffekt zeigte, nannten es aber einfach SIE (secretin inactivating enzyme). Dieses SIE wies alle Merkmale eines Enzymes auf. Es war hitzelabil und nicht dialysierbar. Es entfaltete seine Aktivität zwischen pH 3 und 5, hatte ein pH-Optimum bei

pH 4 und ein weiteres kleineres bei pH 7, was sie mit dem Vorhandensein einer zweiten, weniger aktiven Substanz erklärten. Sie ermittelten eine initiale lineare Abhängigkeit zwischen Aktivität und Konzentration von SIE und eine Korrelation zwischen Aktivität und Zeit. BRIDGEWATER et al. diskutierten, daß das von ihnen gefundene SIE zu den Kathepsinen gehört, welche ihr pH-Optimum ebenfalls zwischen 3,5 und 4.0 haben. Sie grenzten außerdem SIE von der von GRENNGARD et al. entdeckten sogenannten "Secretinase" ab, die ein pH-Optimum von 5-8 aufweisen soll.

Nach Infusion von synthetischem Secretin in die V. portae bekamen WAY et al. (1969) nach Applikation niedriger Dosen (0,06 µg/kg u.h) eine gegenüber Infusion in die periphere Vene um 25 % verminderte Sekretionsantwort. Nach Applikation hoher Dosen (0,24 µg/kg u.h) wurden dagegen identische Sekretionsvolumina erhalten.

CHEY et al. (1971) sind ebenfalls der Auffassung, daß Secretin durch die Leber abgebaut wird. Als Parameter für die Secretinaktivität wurde die hemmende Wirkung des Secretins auf die durch Pentagastrin stimulierte Säuresekretion des Magens genommen. Nach intravenöser Infusion von 2 µg/kg u. h synthetischen Secretins betrug die Abnahme der Säuresekretion 50 %, wohingegen sie nach Infusion in die V. portae nur 15 % ausmachte. Ihren in vivo Versuchen schlossen sie noch eine Leberperfusionstudie an, die am Parameter der Halbwertszeit des Secretins ihre Theorie vom Abbauort erhärtete. Durch Behandlung einer gesunden Leber mit Tetrachlorkohlenstoff induzierten sie eine Leberzirrhose und stellten eine Verlängerung der Halbwertszeit der Secretinwirkung in ihrem Modell von ursprünglich 10 auf 30 min fest.

1.1.2 Cholecystokinin

Da eine direkte Bestimmung des Cholecystokinins im Blut nicht möglich ist, wird in Analogie zu Secretin auch hier die von LEHNERT et al. (1970a, b, 1972) definierte indirekte Halbwertszeit zugrunde gelegt. Nach dieser Definition entspricht die indirekte Halbwertszeit von Cholecystokinin der Zeitspanne, in der die ekbolische Aktivität des Hormons, gemessen am Parameter der Enzymsekretion und transformiert über die Dosis-Wirkungsbeziehung, um die Hälfte abnimmt. Nach dessen Untersuchungen beträgt die Halbwertszeit von Cholecystokinin beim Hund 1,8 min.

Über den Ort der Inaktivierung von CCK herrscht heute noch Unklarheit. Eine der ersten Angaben zu diesem Thema machten GREENGARD et al. Im Serum entdeckten sie jeweils eine Substanz, die Cholecystokinin und Pankreozymin inaktivierte (GREENGARD et al. 1941a, 1944).

Eine andere Theorie vertraten SVATOS und QUEISNEROVA (1960), die im Urin vom Menschen mittels Papierelektrophorese zwei Substanzen trennten, die eine Cholecystokinin- und Pankreozyminaktivität aufweisen sollen. Sie nannten diese Substanzen Urocholecystokinin und Uropankreozymin, die durch die Niere ausgeschieden werden sollen.

In einem in vitro Versuch wiesen HARTIALA und GERSHBEIN (1970) eine Inaktivierung von Pankreozymin durch Kaninchenleber- und Diaminoxidasekonzentrate aus Schweinenieren nach. Sie prüften auch die von GREENGARD et al. (1941a, 1944), HARPER und RAPER (1943) und NARDI et al. (1963) geforderte Inaktivierung durch Serum, konnten jedoch diese Aussage,

abgesehen von kleinen Aktivitätsverlusten nach 8stündiger Inkubation, nicht bestätigen. Kein Inaktivierungseffekt war selbst nach 10stündiger Inkubation des Pankreozymins im Urin zu verzeichnen.

Die Inaktivierung von Cholecystokinin durch die Leber wurde sowohl von BRIDGEWATER et al. (1963) als auch von BERRY und FLOWER (1971) bezweifelt. In einem in vivo Versuch mit Hunden konnten letztere bei vergleichenden Infusionen in die V. portae und die V. femoralis im physiologischen Konzentrationsbereich für CCK (25-10 mU/ml) keinen Unterschied in der Reizantwort feststellen. Zu denselben Ergebnissen gelangten WAY et al. (1969).

Eine im Vergleich zur Gabe in die V. femoralis signifikant erniedrigte Enzymmenge erhielt LEHNERT (1970a), wenn er Cholecystokinin in die A. renalis injizierte. Eine Dosis-Wirkungsbeziehung bestand bei der von ihm verwandten Dosierung nicht.

2. METHODIK

Die Untersuchungen zur Elimination von Secretin und Cholecystokinin wurden an 72 nüchternen Bastardhunden mit einem durchschnittlichen Gewicht von 25 kg durchgeführt. Die Tiere wurden mit Nembutal¹⁾ (5-Äthyl-5-(1-Methylbutyl)-Na-Barbiturat) i.v. anaesthetisiert. Um die Luftwege freizuhalten und - falls erforderlich - mit einer Starlingpumpe beatmen zu können, wurde ein Trachealtubus eingeführt.

Zuerst wurde an der rechten und linken V. femoralis je eine Venaesection durchgeführt. Die eine diente zur Flüssigkeits- und Elektrolytsubstitution, die andere zur Verabreichung der Hormone. Der Blutdruck wurde in der A. femoralis blutig gemessen und von einem Schreiber²⁾ aufgezeichnet. Das Abdomen wurde entlang der Linea alba eröffnet. Der Ductus pancreaticus wurde vor seiner Einmündung in das Duodenum aufgesucht und mit einem Polyäthylenschlauch drainiert, durch den das Pankreassekret in eisgekühlte Vorlagen abgeleitet wurde. Accessorische Pankreasgänge wurden gegebenenfalls unterbunden. Der Ductus choledochus wurde ebenfalls drainiert und distal der Inzisionsstelle ligiert. Es wurde darauf geachtet, daß keine Galle in den freien Bauchraum gelangte. Die abgeleitete Galle wurde verworfen. Um endogene Hormonfreisetzung durch Magensekret zu verhindern, wurde auch der Pylorus ligiert. Das weitere Vorgehen richtete sich nach dem Versuchszweck.

2.1 Inkubation mit Blut

Die Hormone wurden mit 20, 40 und 250 ml Blut, das mit Heparin (Vetren)³⁾ versetzt war, inkubiert. Die Inkubationszeit, während der die Temperatur im Wasserbad auf 37° konstant gehalten wurde, betrug 15 oder 30 min. Die Reinfusion des Blutes erfolgte unter Blutdruckkontrolle in die V. femoralis.

Die Pankreassekretion nach Infusion des Inkubats wurde mit der Secretionsantwort nach Verabreichung der Hormone in gleicher Dosierung (ohne vorherige Inkubation) verglichen.

2.2 Inkubation mit Urin

In zwei Vorversuchen wurden die Hormone mit 4,2 ml Urin während 15 min bzw. 5,5 ml während 35 min inkubiert. Die sich daran anschließenden Untersuchungen wurden mit 10 ml Urin bei einer Inkubationszeit von 30 min durchgeführt. Das Inkubat wurde in die V. femoralis injiziert. Als Vergleich diente wieder die Sekretionsantwort auf Hormonreiz in die V. femoralis in gleicher Dosierung ohne vorausgegangene Inkubation.

2.3 Injektionen bzw. Infusionen in eine Pankreasarterie

Dazu wurde ein Seitenast der A. pancreaticoduodenalis superior aufgesucht, freipräpariert und drainiert. Wegen der guten Anastomosierung der Pankreasarterien beim Hund wurden weder Störungen der Pankreassekretion noch Pankreasnekrosen beobachtet. Nur gelegentlich kam es nach längerem Versuch zu einem kleinen livid verfärbten Pankreasbezirk.

2.4 Injektionen bzw. Infusionen in die V. portae

Über eine zuführende Vene wurde ein Katheder in die V. portae vorgeschoben, so daß weder die V. portae noch der Portalkreislauf beeinträchtigt wurde.

2.5 Injektionen in die A. renalis

Da es sich bei dieser Arterie um eine funktionelle Endarterie handelt, konnte sie nicht unterbunden werden. Die A. renalis wurde zwischen der Abgangsstelle von der Aorta und der Aufzweigung in einen vorderen und hinteren Ast freipräpariert und mit zwei Bändern so fixiert, daß die

Zirkulation nicht beeinträchtigt wurde. Bei der jeweiligen Eröffnung des Abdomens vor Punktion der Arterie wurde der Blutdruck überwacht und aufgezeichnet. Zur Kontrolle der Nierenfunktion wurden beide Uret~~heren~~ drainiert und die ausgeschiedenen Urinmengen gemessen.

2.6 Injektionen bzw. Infusionen in die V. femoralis vor und nach Unterbindung der Nierengefäße

Es wurden dabei die Aa. und Vv. renales beidseits ligiert. Der Versuch fand unter kontinuierlicher Blutdruckkontrolle statt.

Mit Ausnahme der A. renalis wurden alle zum Versuch benötigten Gefäße drainiert. Dies bot den Vorteil, daß die verabreichte Hormonmenge direkt an das betreffende Organ gelangte, ohne daß eine den Hund belastende Eröffnung des Abdomens vorgenommen werden mußte. Die Drainage erfolgte jedesmal mit einem Polyäthylenschlauch, der mit physiologischer Kochsalzlösung gefüllt war. Der Schlauch wurde mit einem Stöpsel dicht verschlossen und in regelmäßigen Abständen durchgespült.

Zur hormonalen Stimulierung wurden hochgereinigtes natürliches Secretin mit stabilisierendem Zysteinhydrochlorid-zusatz ⁴⁾ und natürliches Cholecystokinin ⁵⁾ verwendet. Entsprechende Hormondosen wurden jeweils in 0,15 M NaCl gelöst. Mit Hilfe einer Lymphographiepumpe ⁶⁾ konnte eine konstante Hormonmenge pro Zeiteinheit infundiert werden.

Bereits während des Versuchs wurden das Sekretionsvolumen und die Proteinabsorption des Pankreassekrets mittels eines Absorptiometers (Uvicord) ⁷⁾ bei 280 nm fortlaufend registriert. Außerdem wurden mehrmalige Bestimmungen des Serumbikarbonats nach SCRIBNER und CAILLOUTTE (1954) und der Serumlipase (EC 3.1.1.3.) nach WEBER (1965) durchgeführt. Im Pankreas-

sekret wurden Bikarbonat-, Gesamteiweiß- und Trypsin- (EC 3.4.4.4.) Konzentrationen gemessen. Die Bestimmung des Bikarbonats erfolgte ebenfalls nach SCRIBNER und CAILLOUETTE (1954). Die Eiweißkonzentration wurde nach KIBRICK und CLEMENTS (1948) ermittelt. Da das Pankreassekret direkt aus dem Ductus pancreaticus abgeleitet wurde und das Trypsin noch als Zymogen (Trypsinogen) vorlag, konnte die Bestimmung der Trypsinaktivität erst nach Aktivierung des Trypsinogens durch Enteropeptidase (früher Enterokinase, EC 3.4.4.8.) durchgeführt werden (HAVERBACK et al. 1960). Die statistischen Berechnungen erfolgten mit dem gepaarten t-Test nach Student.

-
- 1) Firma Abbot
 - 2) Firma Hellige
 - 3) Promonta, Hamburg
 - 4) GIH Research Unit. Chem. Abteilung
Karolinska Inst. Stockholm, Schweden
 - 5) GIH Research Unit. Chem. Abteilung
Karolinska Inst. Stockholm, Schweden
 - 6) Firma Braun-Melsungen
 - 7) LKB-Productor Stockholm
 - 8) Firma Hoechst

3. ERGEBNISSE

3.1 Inkubation von Secretin mit Blut

Die Inkubationsversuche mit Secretin wurden in zwei Gruppen unterteilt.

In der ersten Gruppe (N = 3) wurden verschiedene Secretindosen (0,0625, 0,250 und 0,50 clinU/kg K.G.) mit steigenden Volumina von Blut (20 ml - Hund Z/VIII; 40 ml - Hund A/IX; 250 ml - Hund I/IX) inkubiert. Die Inkubationszeit wurde so gewählt, daß sie annähernd der physiologischen Sekretionsdauer eines zuvor in gleicher Dosis verabreichten Secretin-stimulus entsprach. Sie betrug 15 min. In keinem der untersuchten Fälle dieser Gruppe konnte ein Aktivitätsverlust von Secretin nach Inkubation mit Blut beobachtet werden (Tab. 1).

In der zweiten Gruppe (N = 3) wurden eine niedrige (0,0625 clinU/kg K.G.) und eine mittlere (0,250 clinU/kg K.G.) Dosis von Secretin 30 min lang in 250 ml Blut inkubiert. Auch hier konnte kein signifikanter Aktivitätsverlust nach Inkubation nachgewiesen werden (Abb. 1)(Tab. 2).

3.2 Inkubation von Cholecystokinin mit Blut

Auch hier erfolgte eine Zweiteilung der Gruppen.

Die erste (N = 3) bestand aus einer Versuchsreihe, in der verschiedene CCK-Dosen (0,0625, 0,125 und 0,250 IDU/kg K.G.) in 40 ml (Hund E/IX und F/IX) und 250 ml Blut (Hund G/IX) während 15 min inkubiert wurden. Bei all diesen Versuchen zeigte sich keine Aktivitätsverminderung von Cholecystokinin (Tab. 3).

Dieselben Ergebnisse - also keine Aktivitätsabnahme von CCK - erbrachten die Untersuchungen der zweiten Gruppe ($N = 2$), in der 0,250 und 0,50 IDU/kg K.G. Cholecystokinin während 30 min mit 250 ml Blut inkubiert wurden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 zusammengestellt. Abb. 2 zeigt dieses Verhalten am Beispiel von Hund Q/IX.

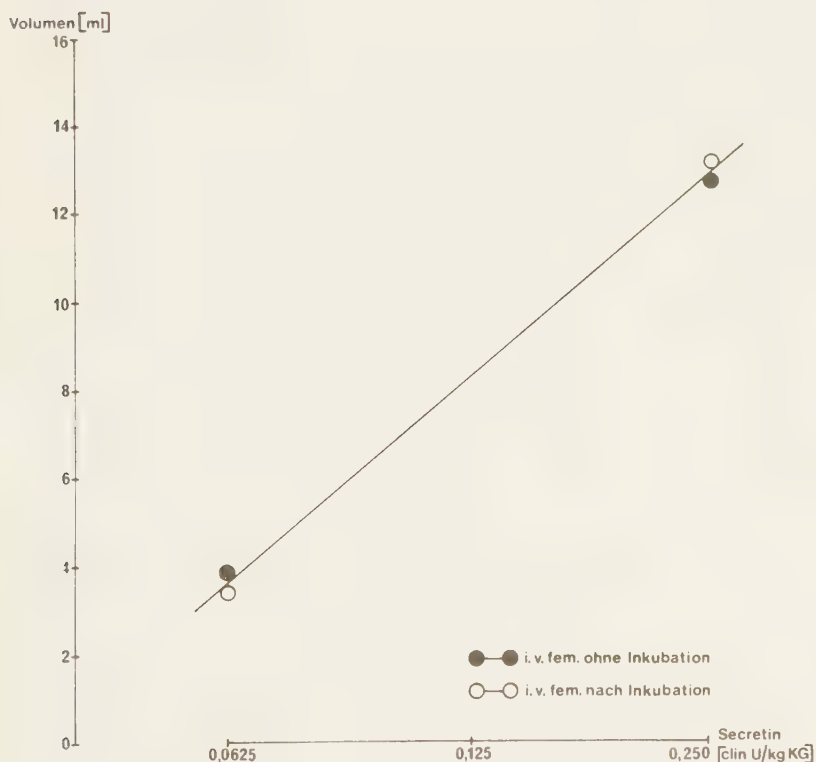


Abb. 1: Volumensekretion nach Secretin, inkubiert mit 250 ml Blut während 30 min und nach Injektion des Hormons in die V. femoralis ohne vorausgehende Inkubation (Hund Q/IX)

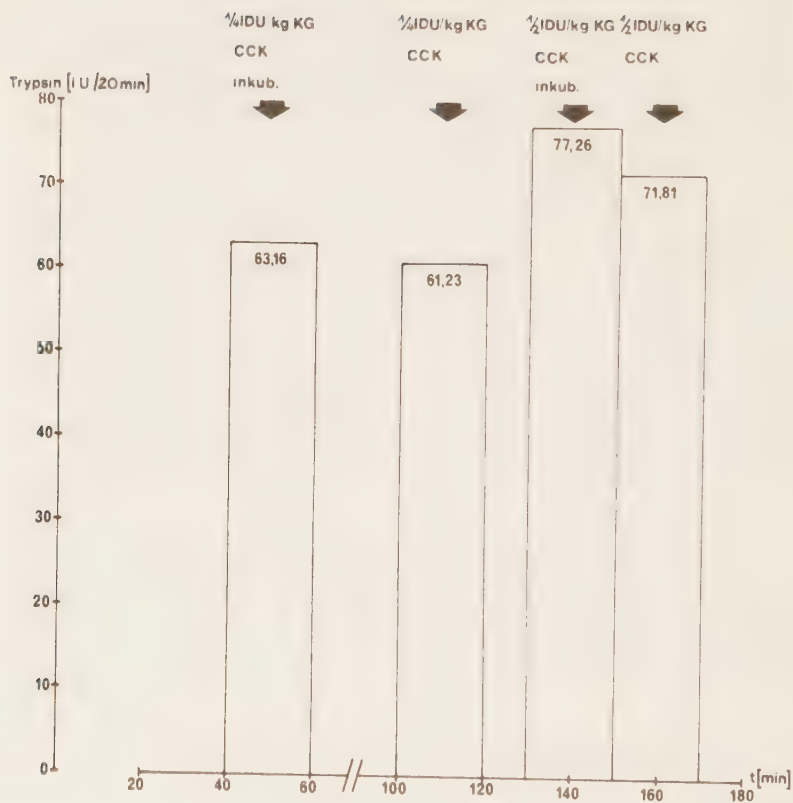


Abb. 2: Trypsinsekretion nach Cholecystokinin, inkubiert mit 250 ml Blut während 30 min und nach Injektion des Hormons in die V. femoralis (gleiche Dosis) ohne vorausgehende Inkubation (Hund Q/IX)

3.3 Inkubation von Secretin mit Urin

Die Inkubationsversuche mit Urin erbrachten keine signifikante Aktivitätsabnahme von Secretin. Die inkubierten Hormondosen waren 0,0625 und 0,250 clinU/kg K.G. (vgl. Tab. 5, Abb. 3). Wegen anderer Versuchsbedingungen ist Hund L/IX nicht in Tab. 5 aufgeführt. Seine Volumenantwort auf 0,125 clinU/kg K.G. Secretin nach 35minütiger Inkubation mit 5,5 ml Urin betrug 11,2 ml. Die Kontrollinjektion derselben Dosis ohne vorausgegangene Inkubation erbrachte 12,3 ml.

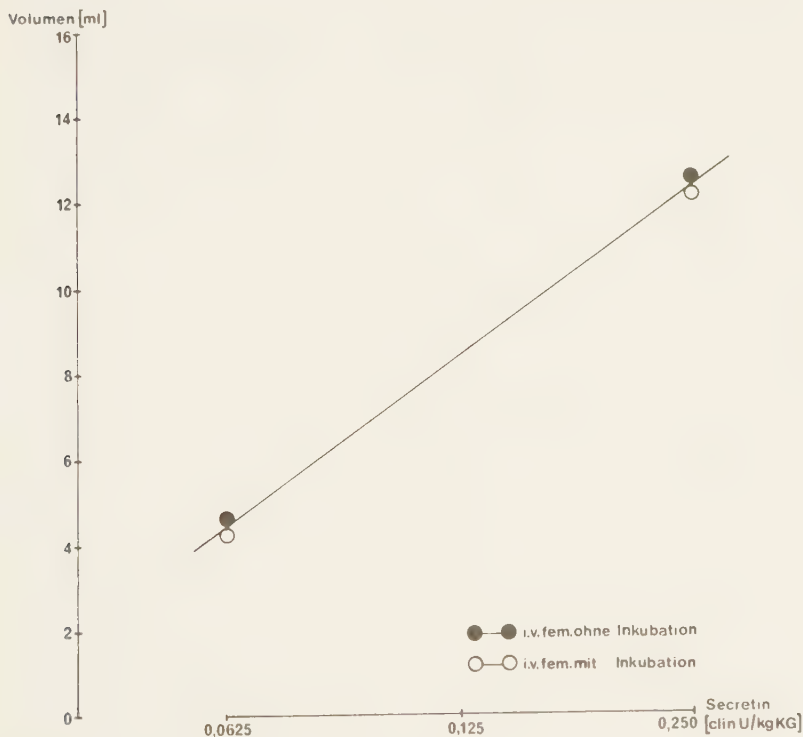


Abb. 3: Volumensekretion nach Secretin, inkubiert mit 10 ml Urin während 30 min und nach Injektion des Hormons in die V. femoralis ohne vorausgegangene Inkubation (Hund Q/IX)

3.4 Inkubation von Cholecystokinin mit Urin

Die Inkubationen mit Cholecystokinin wurden an vier Hunden durchgeführt. Die inkubierten Dosen waren 0,25 und 0,50 IDU/kg K.G. Auch hier konnte kein Aktivitätsverlust festgestellt werden (Tab. 6, Abb. 4). Hund J/IX wurde in Tab. 6 ausgelassen, da bei ihm sowohl die Inkubationszeit (50 min) als auch das Urinvolumen (4,2 ml) von den in Tab. 6 angegebenen Bedingungen abweicht. Auf 0,50 IDU/kg K.G. CCK wurde eine Sekretion von 4,82 IU/20 min Trypsin erhalten, nach Inkubation derselben Dosis 4,78 IU/20 min.

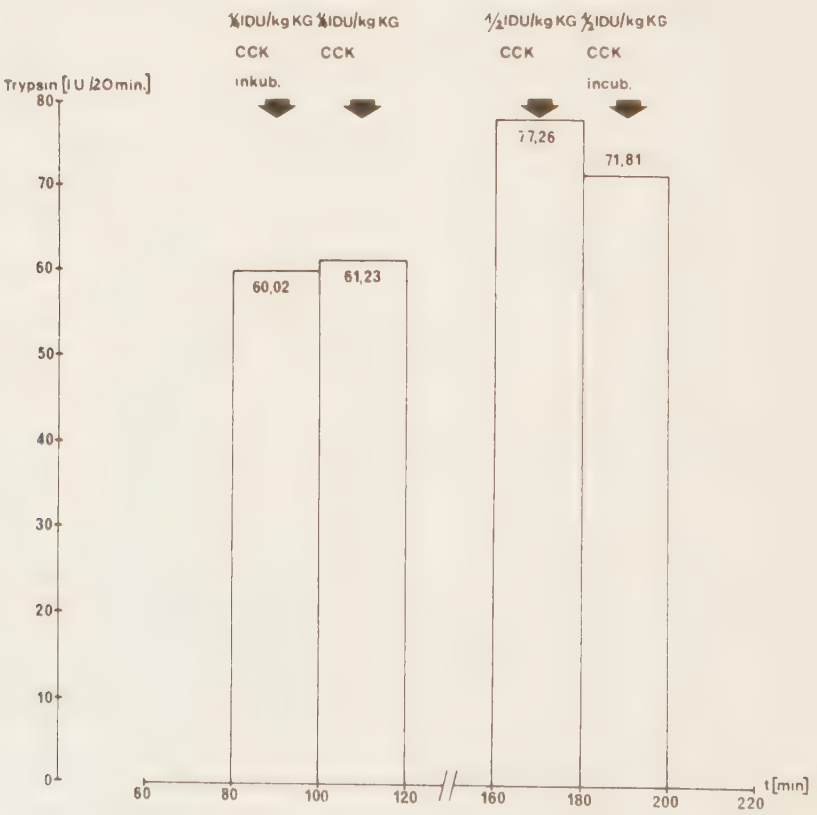


Abb. 4: Trypsinsekretion nach Cholecystokinin, inkubiert mit 10 ml Urin während 30 min und nach Injektion des Hormons in die V. femoralis ohne vorausgehende Inkubation (Hund Q/IX)

3.5 Injektionen bzw. Infusionen von Secretin in eine Pankreasarterie

Die Aktivitäten von Secretin nach Injektionen hoher und niedriger Dosen (0,0625 - 1,0 clinU/kg K.G.) wurden an fünf Hunden geprüft (Tab. 7). Es ergaben sich dabei nach vergleichenden Injektionen in einen Seitenast der A. pancreaticoduodenalis sup. und die V. femoralis für alle Dosisbereiche identische Aktivitäten (Abb. 5). Dasselbe Verhalten wurde bei Infusionen beobachtet. Es wurden hierbei Dosen zwischen 0,125 und 1,0 clinU/kg K.G. und h infundiert.

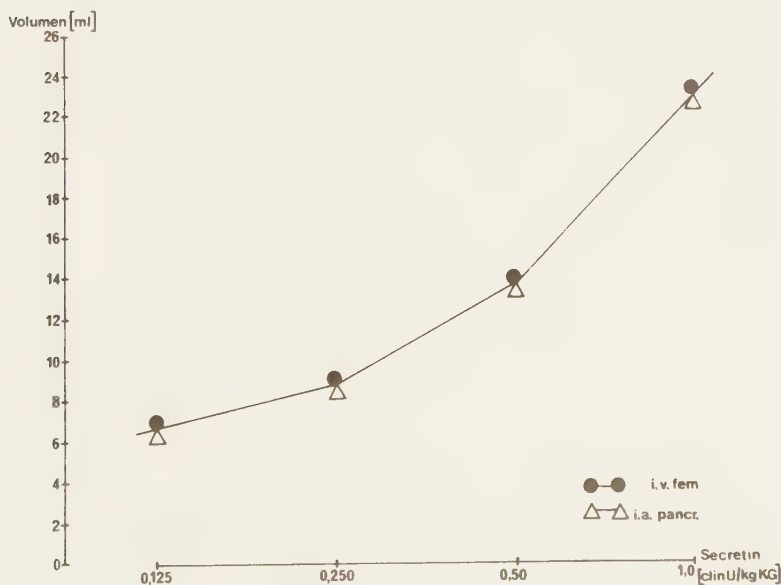


Abb. 5: Volumensekretion nach Injektion von Secretin in einen Seitenast der A. pancreaticoduodenalis sup. und die V. femoralis (Hund U/VII)

3.6 Injektionen bzw. Infusionen von Cholecystokinin

in eine Pankreasarterie

Nach Verabreichung von CCK in den Seitenast der A. pancreaticoduodenalis sup. wurde bei Injektionen und bei Infusionen eine gegenüber der Applikation in die V. femoralis erhöhte Aktivität in allen Dosisbereichen ermittelt. Die Dosen lagen bei Injektionen zwischen 0,0625 und 0,50 IDU/kg K.G., bei Infusionen zwischen 0,250 und 1.0 IDU/kg K.G. und h (Tab. 8). Abb. 6 demonstriert ein Beispiel für Injektion.

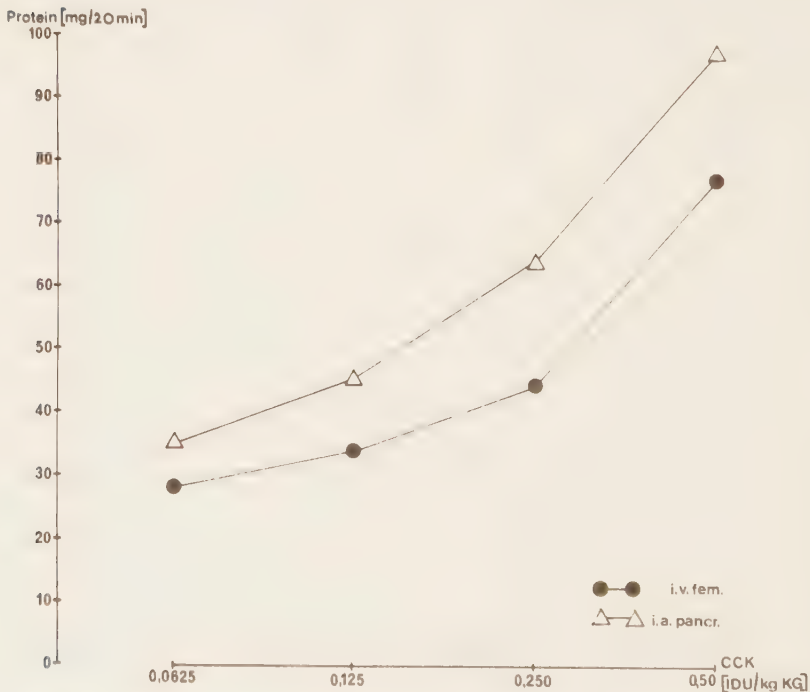


Abb. 6: Proteinsekretion nach Injektion von Cholecystokinin in einen Seitenast der A. pancreaticoduodenalis sup. und in die V. femoralis (Hund D/IX; Aktivität i. v. femoralis: 100 %, Aktivität i. a. pancr.: 144 %)

3.7 Injektionen bzw. Infusionen von Secretin in die V. portae

Diese Versuchsreihe bestand aus 9 Hunden. Die applizierten Dosen gingen bei Injektionen von 0,03125 - 1,0 clinU/kg K.G., bei Infusionen von 0,0078125 - 2,0 clinU/kg K.G. u. h (Tab.9). Während nach Injektion hoher Secretindosen identische Aktivitäten ermittelt wurden, kam es im niedrigen Dosisbereich zu einer Aktivitätsabnahme, die sich allerdings nicht an allen Hunden demonstrieren ließ (Abb. 7). Dieselben Ergebnisse fanden sich nach Infusionen in die V. portae. Als Vergleich dienten wie immer die nach Verabreichung in die V. femoralis erhaltenen Sekretionsvolumina.

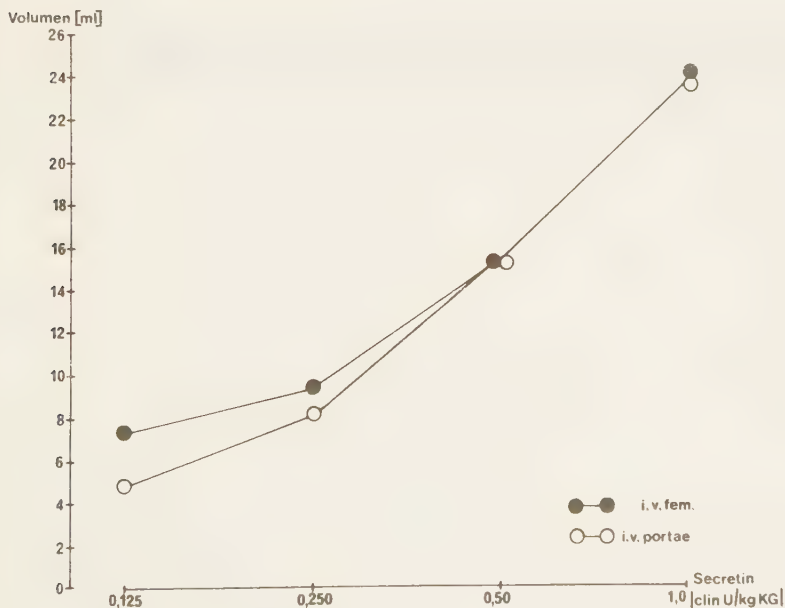


Abb. 7: Volumensekretion nach Injektion von Secretin in die V. portae und die V. femoralis (Hund U/VII)

3.8 Injektionen bzw. Infusionen von Cholecystokinin in die V. portae

Die Verabreichung von Cholecystokinin in die V. portae erbrachte - verglichen mit i. v. fem. - keine Aktivitätsverminderung (N = 5) (Tab. 10). Im Unterschied zu Secretin erstreckte sich dieses Verhalten auf alle Dosisbereiche, d.h., auch bei niedriger Dosierung wurde kein Aktivitätsverlust nachgewiesen (vgl. dazu Abb. 8). Die Hormondosen lagen bei Injektionen zwischen 0,0625 und 0,50 IDU/kg K.G., bei Infusionen zwischen 0,125 und 1.0 IDU/kg K.G. u. h.

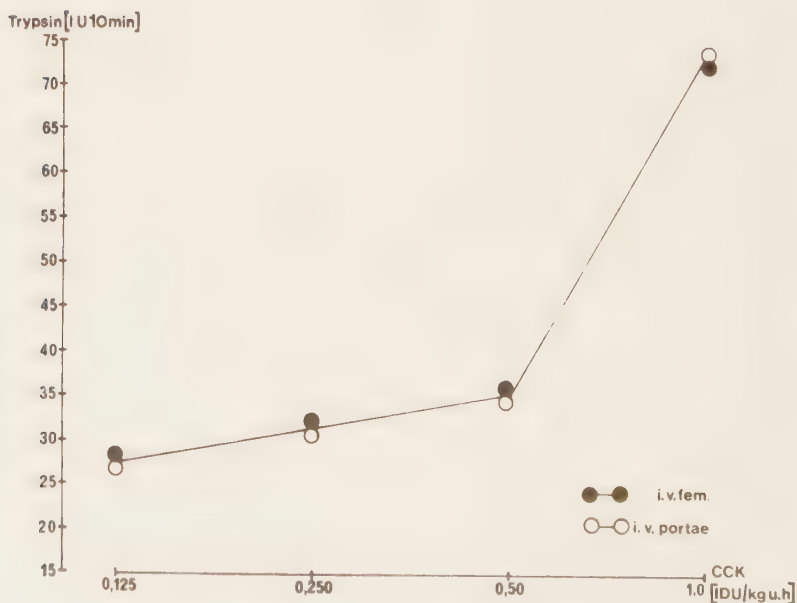


Abb. 8: Trypsinsekretion nach Infusion von Cholecystokinin in die V. portae und in die V. femoralis (Hund K/IX)

3.9 Injektionen von Secretin in die A. renalis

Diese Versuchsgruppe umfaßte 13 Hunde. Zur Punktion der A. renalis mußte jeweils das Abdomen eröffnet werden. Dabei kam es zu keinem nennenswerten Blutdruckabfall (Abb. 9).

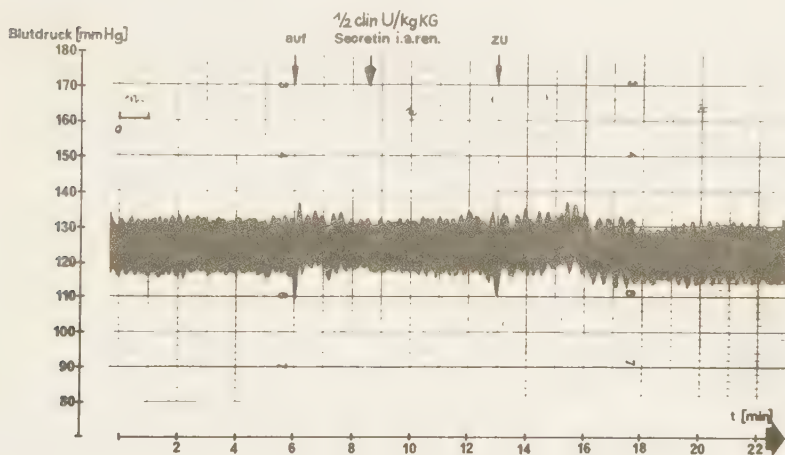
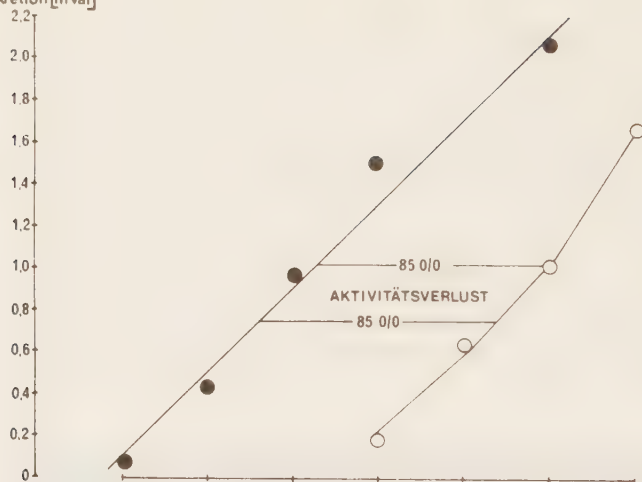


Abb. 9: Blutdruck während des Öffnens (auf) und Schließens (zu) des Abdomens bei Punktion der Nierenarterie (Hund P/VIII). Diese Abbildung darf als repräsentativ für alle anderen Hunde betrachtet werden.

Die Hormondosen reichten von 0,0625 bis 4,0 clinU/kg K.G. Nach Injektion von Secretin in die Nierenarterie wurde eine signifikant niedrigere Volumen- und Bikarbonatsekretion erhalten als nach Injektion derselben Dosis in die V. femoralis (Tab. 11). Bei Vergleich der Dosis-Wirkungskurven von Secretin nach Injektion in die beiden Gefäße zeigte sich ein mittlerer Aktivitätsverlust von 74 %, wenn Secretin in die Nierenarterie injiziert wurde (Tab. 12) (Abb. 10).

Bikarbonat-

sekretion [mval]



Volumen [ml]

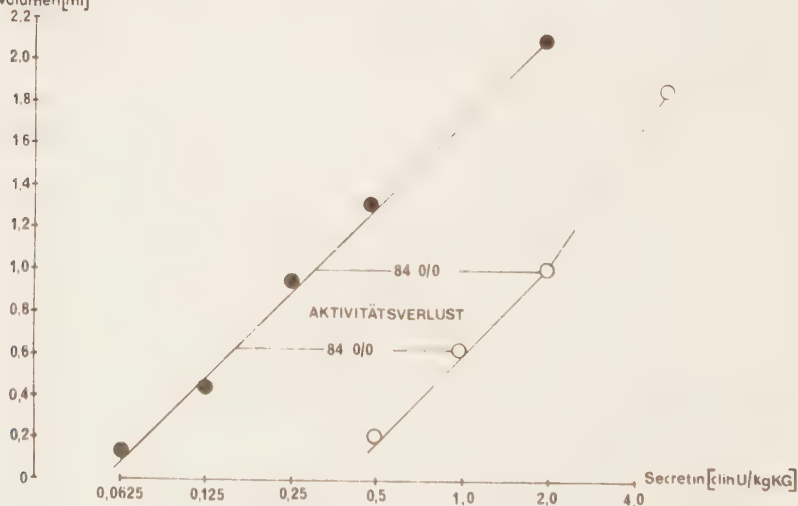


Abb. 10: Volumen bzw. Bikarbonatsekretion nach Injektion von Secretin in die A. renalis und in die V. femoralis (Hund F/VII)

●—● i. v. fem.
○—○ i. a. ren.

Die Bestimmung der biologischen Aktivität erfolgte nach LEHNERT et al. (1973). Die relative Wirksamkeit zweier Substanzen ist definiert als das Verhältnis gleich wirksamer Dosen (WEBER 1964). Als Parameter für die biologische Aktivität von Secretin diente die Volumen- und Bikarbonatsekretion. Die injizierten Secretinmengen wurden so gewählt, daß bei Auftragen der Sekretionsvolumina (bzw. der Bikarbonatmengen) gegen den Logarithmus der Dosis die zu vergleichenden Werte jeweils in den geraden Bereich der Dosis-Wirkungskurve fielen. Die relative Wirksamkeit von Cholecystokinin ist analog definiert (Parameter: Protein- und Trypsinsekretion).

Bei Vergleich der Kinetik der Volumensekretion nach Injektion von Secretin in gleicher Dosierung in die A. renalis bzw. V. femoralis ergab sich, daß beide Sekretionsverlaufkurven den gleichen Gesetzmäßigkeiten unterliegen. Beide Kurven wiesen einen parallelen Abfall auf. Die geringere Volumenantwort nach Verabreichung des Hormons in die Nierenarterie wurde durch Erniedrigung und Verkürzung des Plateaus (maximale Sekretionsrate) hervorgerufen. Der Sekretionsverlauf verhielt sich also wie der einer entsprechend kleineren Dosis, die in die V. femoralis injiziert wurde (Abb. 11).

Um der Frage nachzugehen, ob Secretin durch die Niere lediglich filtriert, jedoch nicht rückresorbiert wird, wurden bei 4 weiteren Tieren extrem hohe Dosen von Secretin in die Nierenarterie injiziert (bis zu 8 clinU/kg K.G.). Der daraufhin aus dem zugehörigen Ureter abgeleitete Urin wurde in die V. femoralis reinjiziert. In keinem Experiment konnte eine biologische Aktivität im Urin nachgewiesen werden. Eine Inaktivierung von Secretin durch Urin wurde, wie bereits oben dargestellt, ausgeschlossen.

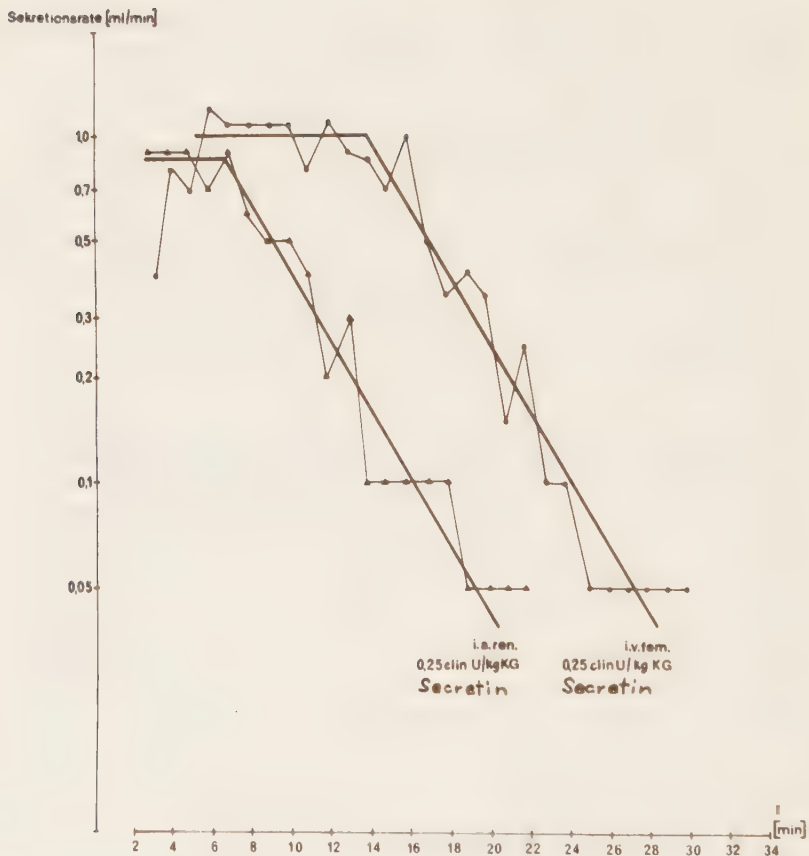


Abb. 11: Sekretionsverlauf nach Injektion von 0,250 clinU/kg K.G. Secretin in die A. renalis und in die V. femoralis (Hund Q/Vii)

3.10 Injektionen von Cholecystokin in die A. renalis

Diese Untersuchungen wurden an 9 Hunden durchgeführt. Die Cholecystokinindosen lagen zwischen 0,250 und 4.0 IDU/kg K.G. Nach Injektion von Cholecystokin in die A. renalis wurden signifikant niedrigere Protein- und Trypsinmengen sezerniert als nach Injektion in die V. femoralis ($p < 0,001$; vgl. Tab.13). Der Aktivitätsverlust von Cholecystokin betrug im mittel 56 % (Tab. 14). Die Berechnung der relativen Wirksamkeit von Cholecystokin erfolgte analog zu Secretin (vgl. 3.9). Abb. 12 zeigt das Sekretionsverhalten am Beispiel von Hund R/VIII. Durch kontinuierliche Blutdruckmessung konnte auch für Cholecystokin ein Blutdruckabfall als Ursache für den Aktivitätsverlust nach Injektion in die A. renalis ausgeschlossen werden.

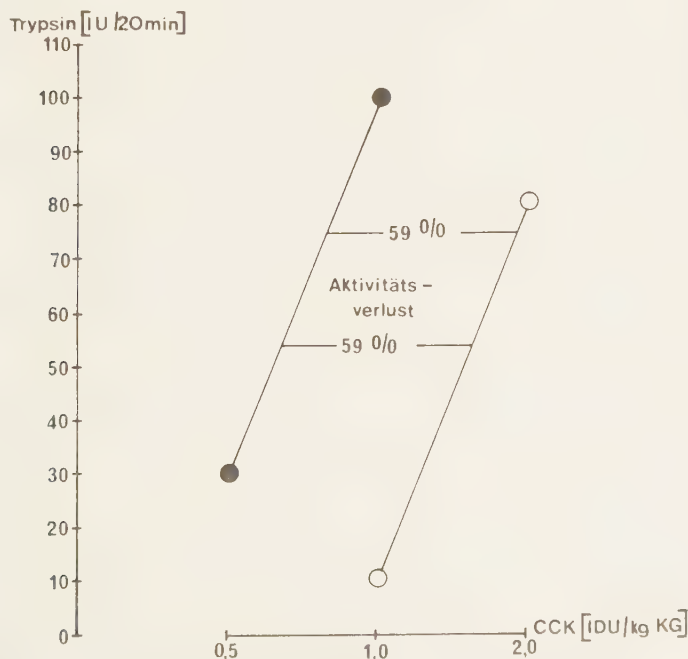


Abb. 12: Trypsinsekretion nach Injektion von Cholecystokin in die A. renalis und in die V. femoralis (Hund R/VIII)

Nach Vergleich der Kinetik der Trypsinsekretion nach Injektion von Cholecystokinin in gleicher Dosierung in die A. renalis und in die V. femoralis fällt wiederum der exponentielle Abfall beider Kurven auf. Der Sekretionsgipfel ist nach Injektion in die A. renalis erniedrigt (Abb. 13).

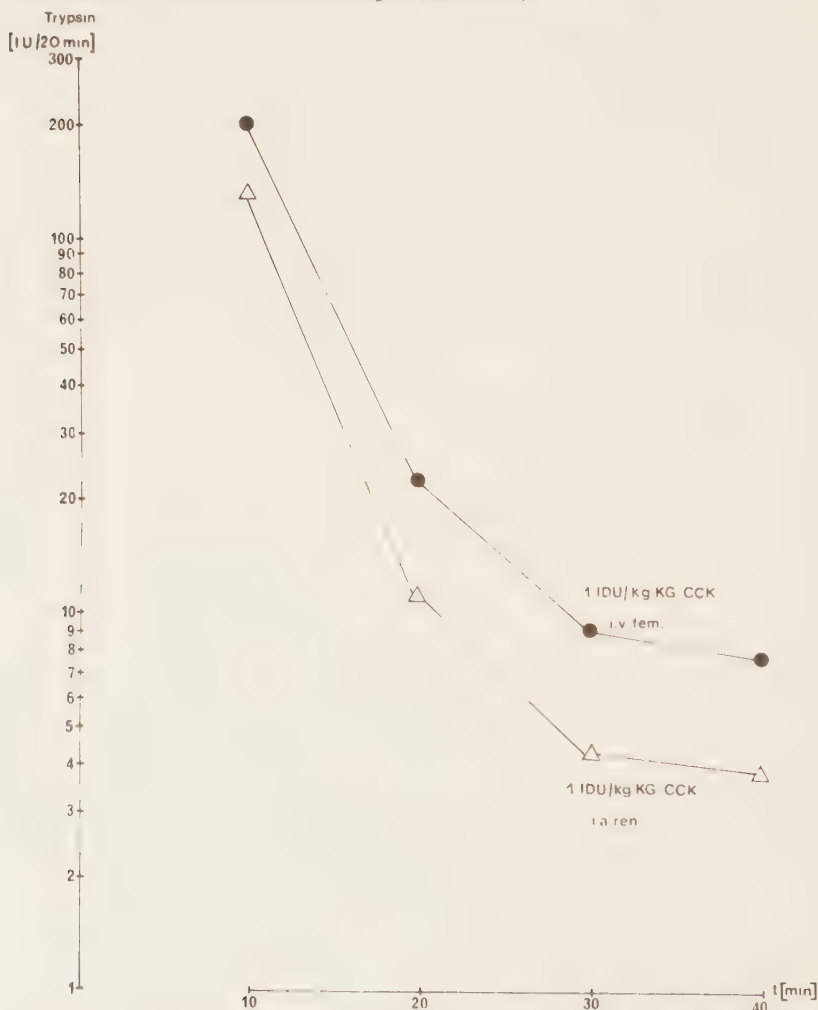


Abb. 13: Kinetik der Trypsinsekretion nach Injektion von 1 IDU/kg K.G. Cholecystokinin in die A. renalis und in die V. femoralis (Hund S/VIII)

Als Kriterium für die Funktionstüchtigkeit der Nieren wurden die von der rechten und linken Niere sezernierten Urinvolumina herangezogen. Das Verhältnis der von beiden Nieren sezernierten Urinvolumina blieb trotz individueller Schwankungen annähernd konstant, d.h., die Punktion der Nierenarterie führte nicht zu einer nachweisbaren Funktionseinschränkung der betreffenden Niere (Abb. 14).

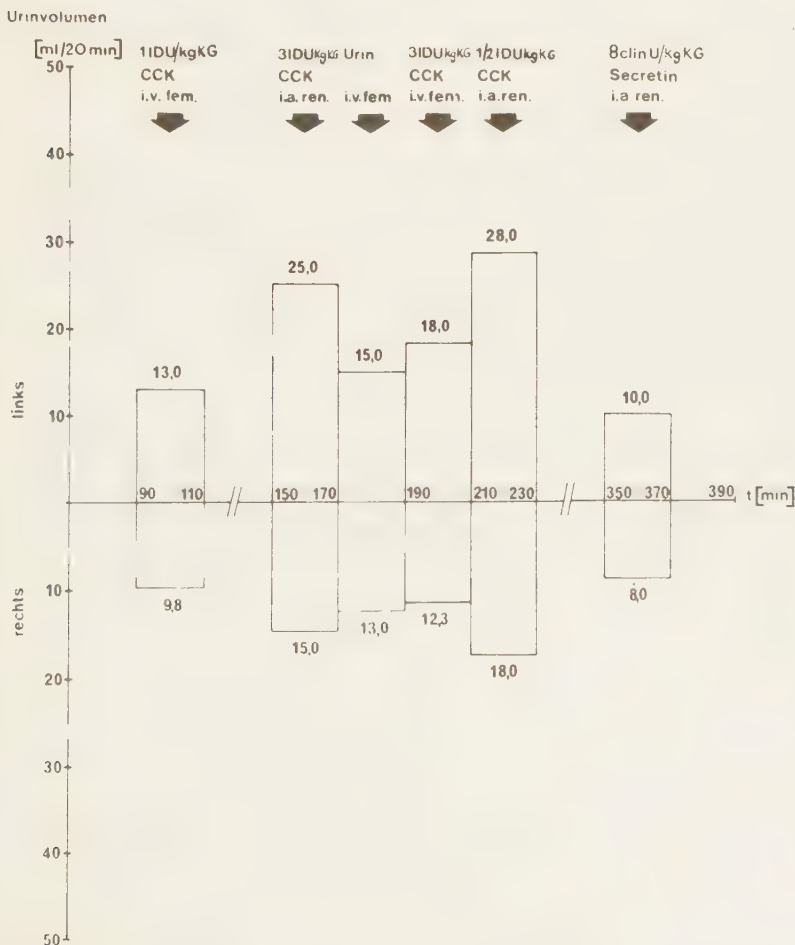


Abb. 14: Urinsekretion der rechten und linken Niere nach Injektion von Cholecystokinin und Secretin in die A. renalis sinistra und in die V. femoralis (Hund L/IX)

Gegen eine bloße Ausscheidung von Cholecystokinin mit dem Harn spricht, daß nach Injektion hoher Dosen (bis zu 4 IDU/kg K.G.) in die A. renalis im aufgefangenen Urin keine biologische Aktivität des Hormons nachweisbar war (N = 5). Eine Inaktivierung von CCK durch Urin konnte, wie bereits berichtet, bei Inkubationsversuchen nicht beobachtet werden.

3.11 Injektionen bzw. Infusionen von Secretin in die V. femoralis vor und nach Unterbindung der Nierengefäße

Die Ligaturversuche wurden an 15 Hunden durchgeführt. Die Hormone wurden bei Injektionen und Infusionen in Dosen von 0,0625 - 2,0 clinU/kg K.G. bzw. clinU/kg K.G. u. h in die V. femoralis verabreicht. Nach Unterbindung der Aa. und Vv. renales beidseits kam es zu keiner Erhöhung des Blutdrucks. Die Serum-Kreatininwerte stiegen maximal auf 3 mg% (nach 6stündiger Ligatur). Wurden die Nierengefäße bei konstanter Secretininfusion unterbunden, so zeigte sich ein deutlicher Anstieg der Sekretionsrate, die sich auf ein neues, höheres Niveau einstellte (Abb. 15, Tab. 15). Auch nach Injektion lagen die sezernierten Volumina nach Unterbindung signifikant höher (Tab. 16). Da auch nach Unterbindung der Nierengefäße eine Dosis-Wirkungsbeziehung nachweisbar war, konnte die Zunahme der Secretinaktivität berechnet werden (vgl. 3.9) (Abb 16 und 17). Sie lag nach Injektion wie nach Infusion im mittel bei 78 % (Tab. 17).

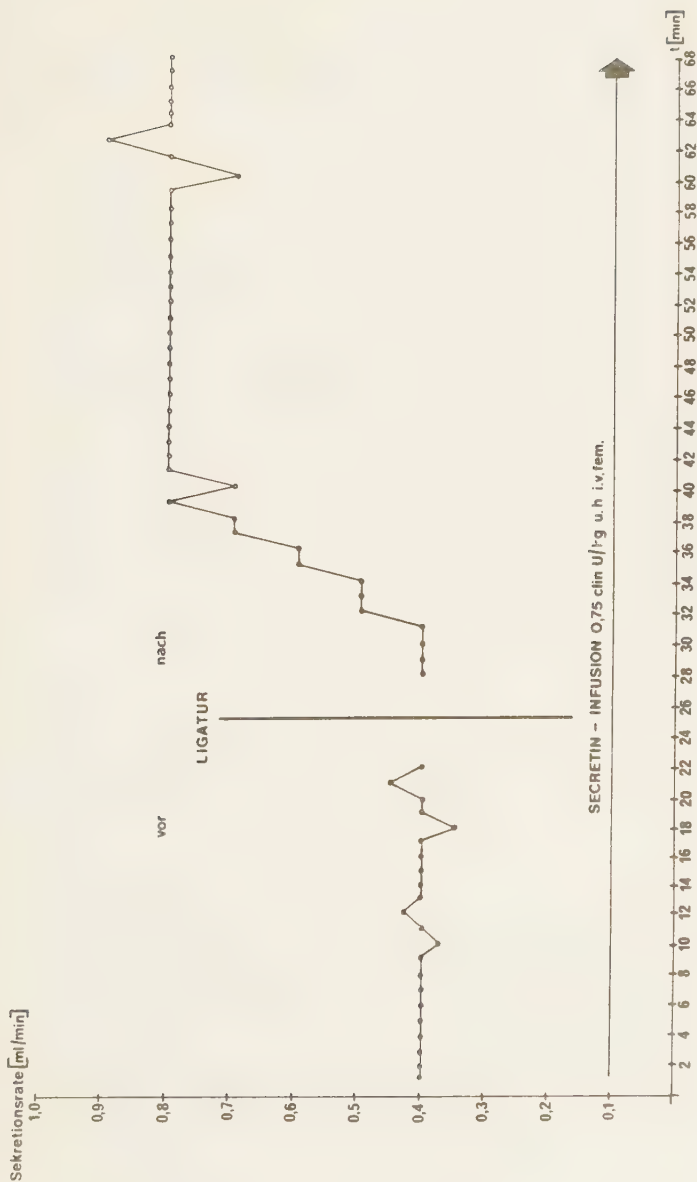


Abb. 15: Volumensekretionsrate nach Infusion von 0,75 clinU/kg K.G. u. h Secretin in die V. femoralis vor und nach Ligatur der Aa. und Vv. renales beidseits (Hund I/IX)

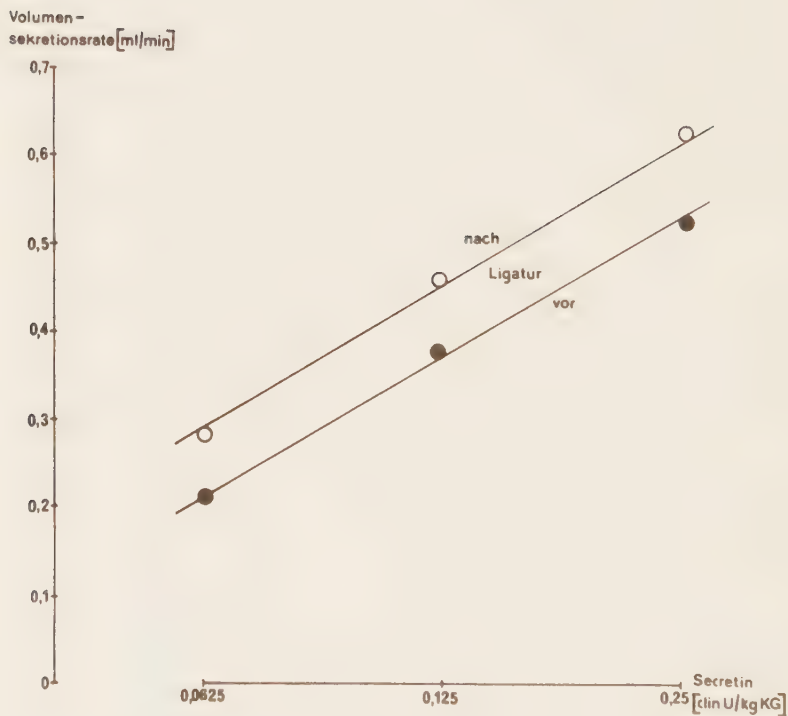


Abb. 16: Volumensekretionsrate nach Infusion von Secretin in die V. femoralis vor und nach Ligatur der Aa. und Vv. renales beidseits (Hund F/VIII)

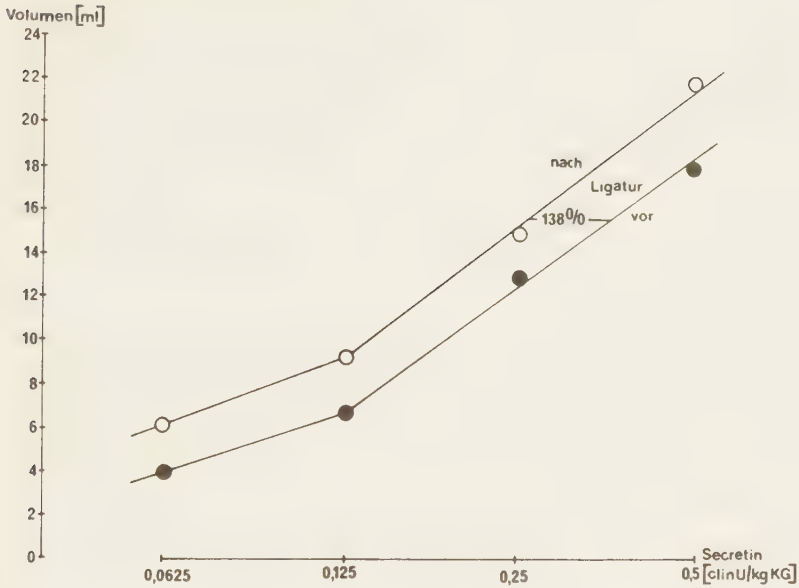


Abb. 17: Volumensekretion nach Injektion von Secretin in die V. femoralis vor und nach Ligatur der Aa. und Vv. renales beidseits (Hund H/VIII)

3.12 Injektionen bzw. Infusionen von Cholecystokinin in die V. femoralis vor und nach Unterbindung der Nierengefäße

Diese Versuchsgruppe umfaßte 8 Hunde. Die Cholecystokinindosen reichten bei Injektionen von 0,0625 bis 2,0 IDU/kg K.G., bei Infusionen von 0,0625 bis 1,0 IDU/kg K.G. u.h. Ebenso wie die Volumensekretion nach Secretin stieg nach Cholecystokinin die Enzymsekretion nach Unterbindung beider Aa. und Vv. renales signifikant an (Tab. 18).

Auch nach Ligatur konnte eine Dosis-Wirkungsbeziehung aufgestellt werden. An dieser ließ sich nach Ligatur eine mittlere Aktivitätszunahme von Cholecystokinin von 49 % nachweisen (Tab. 19). Dabei fiel die mittlere Aktivitätszunahme nach Infusionen etwas höher (73 %) als nach Injektionen (34 %) aus.

3.13 Kinetik der Volumensekretion nach Secretin vor und nach Unterbindung der Nierengefäße

Nach Injektion von Secretin in gleicher Dosierung vor und nach Ligatur der Nierengefäße war das Plateau (maximale Sekretionsrate) nach Unterbindung höher und länger. Dieses Sekretionsverhalten ist mit dem nach Injektion einer höheren Dosis ohne Unterbindung der Nierengefäße vergleichbar. Nach Durchlaufen eines Wendepunktes fiel die Sekretionsrate auch nach Ligatur der Nierengefäße in Form einer Exponentialfunktion ab, der Steigungskoeffizient war jedoch kleiner, d.h. die Kurve verlief flacher (Abb. 18).

3.14 Berechnung der indirekten Halbwertszeit von Secretin vor und nach Unterbindung der Nierengefäße

Durch Transformierung der Sekretionsverlaufskurve über eine Dosis-Wirkungskurve, deren Sekretionsvolumina auf eine mittlere Sekretionszeit bezogen und auf ml/min umgerechnet worden waren, wurde eine hypothetische Eliminationskurve von Secretin erhalten. Da diese Kurve einer Funktion II. Ordnung folgt, ist die Halbwertszeit von Secretin inkonstant (Abb. 19b). Um die Halbwertszeit von Secretin vor und nach Unterbindung der Nierengefäße miteinander vergleichen zu können, muß entweder eine mittlere Halbwertszeit definiert (LEHNERT et al. 1969) oder die Funktion II. Ordnung in zwei Funktionen I. Ordnung zerlegt werden, wobei in semilogarithmischem Maßstab gezeichnet die zwei Geraden g_1 und g_2 resultieren (MAKHLOUF 1972; REEDER et al. 1972) (Abb. 19a).

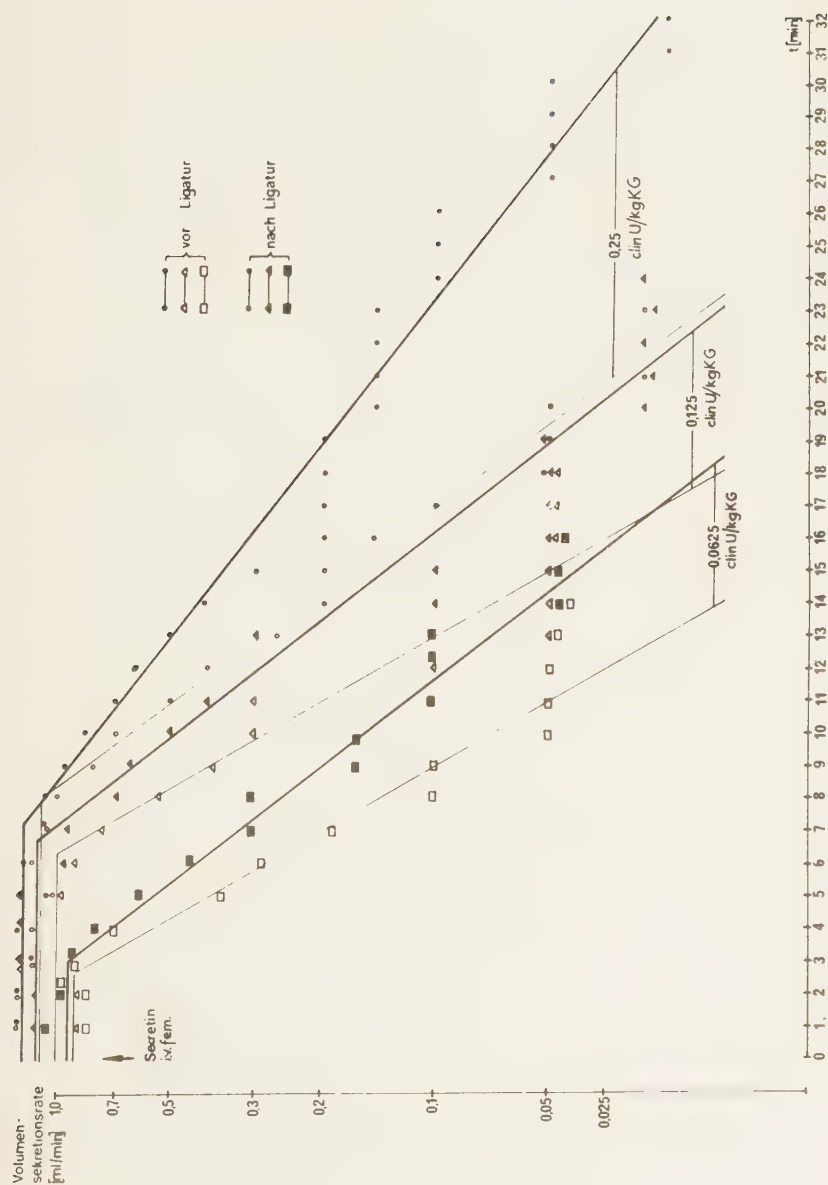
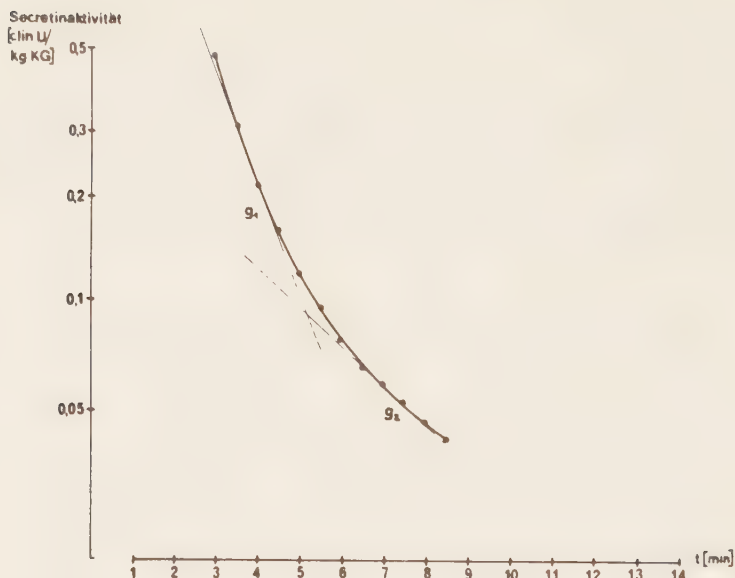
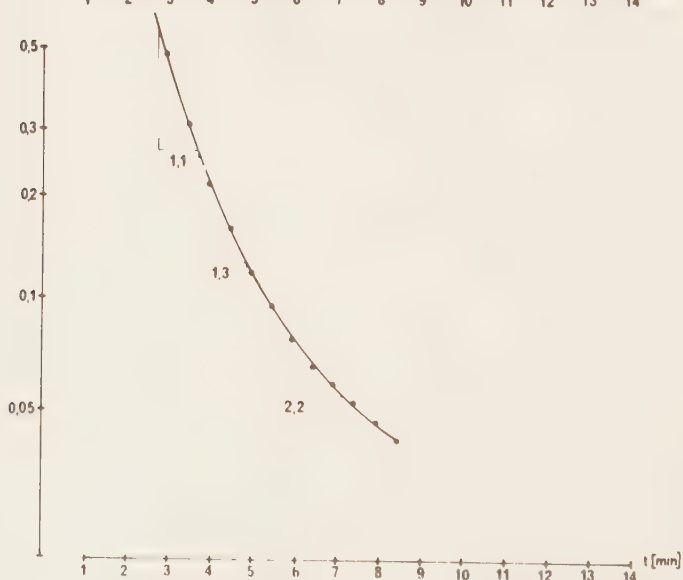


Abb. 18: Sekretionsverlaufskurven nach Injektion verschiedener Dosen von Secretin in die V. femoralis vor und nach Unterbindung der Aa. und Vv. renales beidseits (Hund F/VIII)



19 a



19 b

Abb. 19: Eliminationskurven nach Injektion von Secretin in die V. femoralis (Hund B/IX)
 a) Zerlegung der Funktion II. Ordnung in 2 Funktionen I. Ordnung (g_1 und g_2)
 b) Direktes Abgreifen der verschiedenen Halbwertszeiten an der Funktion II. Ordnung

Dies soll am Beispiel von Hund B/IX veranschaulicht werden. Bei diesem Tier nimmt nach Ligatur der Nierengefäße die mittlere Halbwertszeit von 2,8 auf 4,2 min zu. Nach Zerlegung der Funktion II. Ordnung in zwei Funktionen I. Ordnung ergibt sich nach Ligatur eine Verlängerung der Halbwertszeit von 1,0 auf 1,45 min und für die flache Komponente der Kurve (g_2 bzw. $g_{2'}$) von 2,9 auf 4,3 min (Abb. 20).

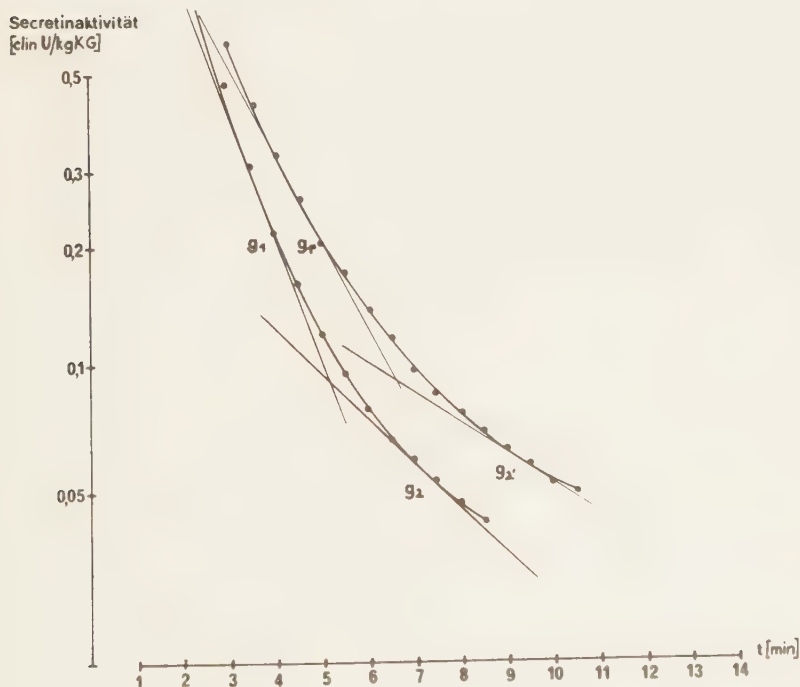


Abb. 20: Eliminationskurven nach Injektion von Secretin in die V. femoralis vor und nach Ligatur der Nierengefäße (Hund B/IX)

Die mittlere Halbwertszeit von Secretin am Hund verlängert sich nach Ligatur der Nierengefäße von durchschnittlich 2,9 auf 4,8 min (Tab. 20). Nach Zerlegung der Funktion II. Ordnung nahm die Halbwertszeit von Secretin nach Unterbindung der Nierengefäße für den steilen Anfangsteil der Kurve (g_1 bzw. $g_{1,}$) von 1,2 auf 1,7 min, für die flache Komponente (g_2 bzw. $g_{2,}$) von 3,2 auf 4,8 min zu (Tab. 21).

4. DISKUSSION

4.1 Blut

Nach den hier vorliegenden Ergebnissen kommt dem Blut bei der Inaktivierung von Secretin bzw. Cholecystokinin keine wesentliche physiologische Bedeutung zu. Zu denselben Ergebnissen gelangten LEHNERT (1970a) und HARTIALA und GERSHBEIN (1970); letztere führten ihre Untersuchungen jedoch nur mit Cholecystokinin durch. Gegensätzlich waren die Ergebnisse von GREENGARD et al. (1941a, b, c, 1944), DOUBILET (1946) und ROGERS (1951). Da diese Untersuchungen jedoch mit unreinen Hormonpräparationen durchgeführt worden sind, ist ihre Aussagekraft anfechtbar. Das Vorhandensein einer spezifischen "Secretinase" im Serum, wie von GREENGARD et al. (1941b, c) postuliert, ist durch die vorliegenden Untersuchungen widerlegt. Berechtigt erscheint aus heutiger Sicht die von BRIDGEWATER et al. (1962) vertretene Auffassung, daß es sich um ein unspezifisch wirkendes Enzym handelt.

4.2 Pankreas

Nach Injektion oder Infusion von Cholecystokinin in die A. pancreatica wurde eine höhere Enzymantwort erhalten als nach Applikation des Hormons in die V. femoralis. Als mögliche Erklärung dieses Befundes bietet sich die Hypothese an, daß die Enzymsekretion nach Cholecystokinin eine Funktion der Konzentration des Hormons am Rezeptor darstellt. Die Anfangskonzentration von Cholecystokinin am Rezeptor ist nach Injektion in die A. pancreatica größer als nach Injektion derselben Dosis in die V. femoralis, da das Hormon nach intravenöser Verabreichung bereits vor Erreichen des Pankreas über die Äste der Aorta im ganzen Körper verteilt und dabei bereits zum Teil inaktiviert wird.

Analoges gilt für Infusionen. Außerdem dürften andere Zielorgane von Cholecystokinin, z. B. die Gallenblase, deren Rezeptoren ebenfalls das Hormon "abfangen" können, von Bedeutung sein.

Für das, verglichen mit Cholecystokinin, unterschiedliche Verhalten von Secretin nach Injektion des Hormons in die A. pancreatica kann folgende Hypothese aufgestellt werden: Die hohe Anfangskonzentration des Hormons am Rezeptor im Pankreas nach Injektion in die A. pancreatica scheint bei Secretin keine derart entscheidende Rolle zu spielen. Hierbei wird davon ausgegangen, daß für jedes der beiden Hormone ein spezifischer Rezeptor vorhanden ist, mit dem das jeweilige Hormon einen Hormon-Rezeptor-Komplex bildet. Die Zahl der Hormon-Rezeptor-Bindungen pro Zeiteinheit muß für Secretin kleiner sein als für Cholecystokinin. Somit ist die Anzahl der unmittelbar nach Injektion in die A. pancreatica zustande gekommenen Bindungen zwischen Secretin und Rezeptor bei gleicher Kontaktzeit prozentual kleiner als die nach Injektion einer vergleichbaren Dosis von Cholecystokinin. Analoges gilt für Infusionen in die A. pancreatica. Auch hier steht dem Rezeptor nur eine begrenzte Zeit zur Verfügung, um sein spezifisches Hormon zu binden. In diesem Zusammenhang muß auch der mit steigenden Secretindosen sich abflachende Steigungskoeffizient der Sekretionsverlaufskurve erwähnt werden. Diese Abflachung ist möglicherweise Ausdruck einer verstärkten Rezirkulation des Hormons aus dessen Kompartimenten, da die hohe Anfangskonzentration von Secretin am Rezeptor nicht mehr voll ausgeschöpft werden kann.

4.3 Leber

Nach den hier vorliegenden Ergebnissen und nach den Untersuchungen von WAY et al. (1969) kann Secretin wenigstens in einem gewissen Umfang durch die Leber inaktiviert werden (Inaktivierung? Sekretion?). Für eine Elimination von Secretin durch die Leber sprechen auch die Ergebnisse von NECHELES et al. (1959), SKILLMAN et al. (1962) und BRIDGEWATER et al. (1962). Die Kapazität dieses Inaktivierungssystems darf dabei nicht überschätzt werden, da nach Applikation von Secretin in hoher Dosierung in die V. portae keine Aktivitätsminderung mehr aufgetreten ist.

Eine Inaktivierung von Cholecystokinin in der Leber darf sowohl nach den hier vorliegenden Ergebnissen als auch nach übereinstimmenden Resultaten von WAY et al. (1969) und BERRY und FLOWER (1971) ausgeschlossen werden. Zu den von HARTIALA und GERSHBEIN (1970) durchgeführten Versuchen ist anzumerken, daß beim Aufbereiten von Geweben, insbesondere bei Lebergewebe, eine Reihe von Proteasen (lysosomale Enzyme) freigesetzt werden, deren physiologische Bedeutung jedoch nicht nachweisbar ist.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die Leber weder für den Abbau des Secretins noch für den des Cholecystokinins eine entscheidende Rolle spielt. Dies erscheint auch durchaus sinnvoll, da anderenfalls die Hormone bereits vor Erreichen ihres Zielorgans ihre Wirksamkeit verlieren würden.

4.4 Niere

Die Inaktivierung von Secretin und Cholecystokinin durch die Niere darf als gesichert betrachtet werden. Dies konnte durch die hohen Aktivitätsverluste der Hormone nach Injektion derselben in die A. renalis sowie durch die Aktivitätszunahme der Hormone nach Ausschaltung beider Nieren belegt werden. Bei Punktion der A. renalis wurde kontinuierlich der Blutdruck registriert und die sezernierten Urinvolumina der rechten und der linken Niere gemessen. Somit konnten sowohl ein Blutdruckabfall nach Eröffnung des Abdomens als auch eine durch die Punktion der Nierenarterie bedingte Niereninsuffizienz als Ursache für den Aktivitätsverlust der beiden Hormone ausgeschlossen werden. Auch die Aktivitätssteigerung der Hormone nach Unterbinden der Nierengefäße war sicher nicht in einem Blutdruckanstieg oder in einer beginnenden Urämie begründet. Der Blutdruck wurde durch die Unterbindung der Nierengefäße nicht beeinflusst und die Kreatininkonzentration im Serum erreichte ihren Höchstwert mit 3 mg %. Untersuchungen von HEIDBREder et al. (1972) ergaben außerdem, daß eine chronische Urämie bei nephrektomierten Kaninchen das exkretorische Leistungsvermögen des Pankreas herabsetzt. Darüber hinaus ist zu bedenken, daß der Aktivitätsanstieg der Hormone bereits wenige Minuten nach Ligatur der Nierengefäße einsetzt, zu einem Zeitpunkt, zu dem noch keine wesentlichen Veränderungen in der Stoffwechsellage des Organismus aufgetreten sein können. Die Abnahme der relativen Wirksamkeit von Secretin nach Injektion in die A. renalis mit einer entsprechenden Sekretionskinetik muß folgendermaßen interpretiert werden: Von der in die A. renalis injizierten Secretinmenge wird bereits in der Niere ein großer Teil abgefangen, so daß nur noch eine kleinere Hormonmenge das Pankreas erreicht und eine dieser Hormonmenge entsprechende Sekretionsantwort bedingt. Analoges gilt für

den Aktivitätsverlust von Cholecystokinin und die Kinetik der Enzymsekretion nach Injektion dieses Hormons in die A. renalis.

Einen weiteren Beweis für die Bedeutung der Niere bei der Inaktivierung von Secretin und Cholecystokinin lieferte die nach Ligatur der Nierengefäße gesteigerte Volumen- bzw. Enzymsekretion - Ausdruck einer erhöhten Hormonkonzentration im Blut. Nach Ausschalten der beiden Nieren ist bemerkenswert, daß die Aktivitätszunahme von Cholecystokinin nach Ligatur der Nierengefäße bei Injektionen geringer ausfiel als bei Infusionen. Dies läßt sich aber leicht einsehen, wenn die bereits oben erläuterte Hormon-Rezeptor-Hypothese auf die hier vorliegenden Verhältnisse übertragen wird: Die nach Unterbindung der Nierengefäße erhaltene erhöhte Enzymsekretion ist durch den verzögerten Abbau des Hormons bedingt. Für die insgesamt sezernierte Proteinmenge nach Cholecystokinin besitzt jedoch die Anfangskonzentration des Hormons am Rezeptor im Pankreas - und diese ist nach Injektion von Cholecystokinin in die V. femoralis sowohl vor als auch nach Unterbindung gleich hoch - eine so wesentliche Bedeutung, daß der verlangsamte Abbau von Cholecystokinin nach Ligatur der Nierengefäße teilweise überdeckt wird. Anders bei Infusion von Cholecystokinin in die V. femoralis. Hierbei ist die wirksame Hormonkonzentration nach Ligatur in ihrer Gesamtheit erhöht.

Unterstrichen werden diese Befunde durch die Verlängerung der Halbwertszeit von Secretin nach Ausschaltung der beiden Nieren. Die Bestimmung der Halbwertszeit von Cholecystokinin scheiterte am Versuchsmodell, da an diesem eine minütliche Fraktionierung der Proben nicht immer möglich war. Ein

weiterer Grund lag in der Verabreichung des Hormons in die V. femoralis, die, im Gegensatz zur Injektion von Cholecystokinin in die A. pancreatica, keine eindeutige Beurteilung der Kinetik der Enzymsekretion erlaubte (LEHNERT 1970b).

Neben der Niere müssen jedoch noch andere Organe mit Fähigkeiten zur Inaktivierung von Secretin und Cholecystokinin dem Organismus zur Verfügung stehen, da nach Ausschalten beider Nieren selbst nach vierstündiger konstanter Infusion von Secretin die Sekretionsrate auf einem höheren Niveau konstant blieb, d.h., keine Kumulation des Hormons auftrat.

Die Fähigkeit der Niere zum Anreichern und Abbau von Polypeptiden ist seit längerem bekannt (ASCH et WARTER 1967). So wurde der Abbau von Cholecystokinin durch die Niere bereits von LEHNERT (1970a) diskutiert. Ebenso gilt er für die beiden nahe verwandten Hormone Glukagon (COX et al. 1957; NARAHARA und WILLIAMS 1957) und Gastrin (CLENDINNEN et al. 1970, 1971; DAVIDSON et al. 1973; NEWTON und JAFFE 1971) als gesichert.

Der Mechanismus, welcher der Elimination von Secretin und Cholecystokinin durch die Niere zugrunde liegt, ist nicht bekannt. Er dürfte sich jedoch nicht grundsätzlich von dem anderer Polypeptide oder kleinerer Proteine unterscheiden. Die Filtration der Hormone in den Glomerula darf wegen des Molekulargewichts vorausgesetzt werden. Die Menge des Hormons, die im Endharn ausgeschieden wird, dürfte niedrig sein, da nach Injektion von extrem hohen Dosen von Secretin und Cholecystokinin in die A. renalis in dem aus dem zugehörigen Ureter gewonnenen Urin im biologischen Versuch kein Hormon

nachgewiesen werden konnte. Dieses Ergebnis steht in Übereinstimmung mit Untersuchungen von COX et al. (1957), CLENDINNEN et al. (1970, 1971), DAVIDSON et al. (1973 und NEWTON und JAFFE (1971), bei denen weniger als 2 % der intravenös injizierten Menge eines radioaktiv markierten Glukagons bzw. Gastrins im Urin nachgewiesen wurde.

Die in ihrer Methodik strittigen Ergebnisse von SVATOS und QUEISNEROVA (1960) - elektrophoretischer Nachweis eines ekbolisch wirksamen Uropancreozymins im Urin - müssen bezweifelt werden, zumal es diesen gelang, ein Urocholecystokinin von einem Uropancreozymin mit biologischer Aktivität zu trennen.

Aufgrund des hohen Aktivitätsverlustes beider Hormone in der Niere, der die glomeruläre Filtrationsrate übersteigt, muß ein zusätzlicher peritubulärer Prozeß postuliert werden, der für Insulin bereits beschrieben wurde (ZAHARKO 1966). Nach der Filtration erfolgt eine fast vollständige Rückresorption in den proximalen Tubuli. Dies wurde für Proteine nachgewiesen (CARONE 1966; CORTNY et al. 1970; MAACK und KINTER 1969; MILLER et al. 1965; ROYCE 1968; STRAUS 1964; VAN LIEW et al. 1967, 1970).

5. ZUSAMMENFASSUNG

An 72 narkotisierten Hunden wurden Untersuchungen zur Elimination von Secretin und Cholecystokinin durchgeführt. Dabei wurden folgende Ergebnisse erhalten:

1. Nach Inkubation von Secretin bzw. Cholecystokinin mit Blut wurde keine Aktivitätsabnahme der Hormone festgestellt.
2. Die Inkubation von Secretin und Cholecystokinin mit Urin führte ebenfalls zu keiner Aktivitätsminderung.
3. Nach Injektion und Infusion von Secretin in einen Seitenast der A. pancreaticoduodenalis superior wurde eine gegenüber Applikation in die V. femoralis identische Aktivität des Hormons erhalten. Im Gegensatz dazu zeigte sich bei Cholecystokinin eine Erhöhung der Aktivität, wenn das Hormon in die Pankreasarterie injiziert oder infundiert wurde.
4. Die Aktivität von Secretin war nach Verabreichung des Hormons in die V. portae gegenüber der Gabe in die V. femoralis vermindert, jedoch nur, wenn niedrige Secretindosen appliziert wurden. Cholecystokinin war bei Applikation sowohl niedriger als auch hoher Dosen in die V. portae gleich wirksam wie nach Verabreichung in die V. femoralis.
5. Nach Injektion von Secretin in die A. renalis wurde ein Aktivitätsverlust von 74 % gegenüber der Injektion in die V. femoralis beobachtet. Der Aktivitätsverlust betrug für Cholecystokinin nach Injektion in die Nierenarterie im Mittel 56 %.

6. Secretin und Cholecystokinin konnten auch nach Injektion hoher Hormondosen in die A. renalis im Urin nicht biologisch nachgewiesen werden.
7. Durch Ligatur der Nierengefäße nahm die relative Wirksamkeit von Secretin um 78 %, die von Cholecystokinin um 49 % zu. Die mittlere Halbwertszeit von Secretin verlängerte sich dabei von 2,9 auf 4,8 min.

6. TABELLARISCHER ANHANG

Hund	Volumen (ml)		Blutvolumen (ml)
	ohne Inkubation	nach Inkubation	
Z/VIII	7,00	6,00	20
A/IX	5,15	5,75	40
	5,90	6,60	40
I/IX	7,20	6,75	250
	19,05	18,75	250

Tab. 1: Volumensekretion nach Secretin, inkubiert mit Blut (steigende Volumina) während 15 min und nach Injektion des Hormons in die V. femoralis (gleiche Dosis) ohne vorausgehende Inkubation.

Hund	Volumen (ml)		Blutvolumen (ml)
	ohne Inkubation	nach Inkubation	
O/IX	5,40	5,10	250
Q/IX	3,90	3,30	250
	12,70	13,40	250
R/IX	3,80	4,40	250
Σ	25,80	26,20	
N=4			
$\bar{x}$	6,45	6,55	

Tab. 2: Volumensekretion nach Secretin, inkubiert mit 250 ml Blut während 30 min und nach Injektion des Hormons in die V. femoralis (gleiche Dosis) ohne vorausgehende Inkubation.

Hund	Protein (mg/20min)		Blutvolumen (ml)
	ohne Inkubation	nach Inkubation	
E/IX	19,56	19,57	40
F/IX	21,93	21,55	40
	34,72	34,62	40
G/IX	34,32	35,19	250

Tab. 3: Proteinsekretion nach Cholecystokinin, inkubiert mit Blut (steigende Volumina) während 15 min und nach Injektion des Hormons in die V. femoralis (gleiche Dosis) ohne vorausgehende Inkubation.

Hund	Trypsin (IU/20 min)		Blutvolumen (ml)
	ohne Inkubation	nach Inkubation	
Q/IX	61,23	63,16	250
	71,81	77,26	250
R/IX	156,57	143,72	250
	164,99	158,51	250
D/X	116,66	125,45	250
Σ	571,26	568,10	
N=5			
$\bar{x}$	114,25	113,62	

Tab. 4: Trypsinsekretion nach Cholecystokinin, inkubiert mit 250 ml Blut während 30 min und nach Injektion des Hormons in die V. femoralis (gleiche Dosis) ohne vorausgehende Inkubation.

Hund	Volumen (ml)		Urinvolumen (ml)
	ohne Inkubation	nach Inkubation	
N/IX	9,70	9,90	10
Q/IX	12,70	12,20	10
	4,40	4,20	10
R/IX	13,90	12,30	10
	3,80	4,00	10
Σ	44,50	42,60	
N=5			
$\bar{x}$	8,90	8,52	

Tab. 5: Volumensekretion nach Secretin, inkubiert mit 10 ml Urin während 30 min und nach Injektion des Hormons in die V. femoralis (gleiche Dosis) ohne vorausgehende Inkubation.

Hund	Trypsin (IU/20min)		Urinvolumen (ml)
	ohne Inkubation	nach Inkubation	
O/IX	146,18	122,03	10
Q/IX	61,23	60,02	10
	71,81	66,50	10
R/IX	156,57	175,32	10
Σ	435,79	423,87	
N=4			
$\bar{x}$	108,95	106,97	

Tab. 6: Trypsinmenge nach Cholecystokinin, inkubiert mit 10 ml Urin während 30 min und nach Injektion des Hormons in die V. femoralis (gleiche Dosis) ohne vorausgehende Inkubation.

Hund	i.v. femoralis (ml)	i.a. pancreatico. (ml)	Verabreichungs- art
B/VII	10,40	10,50	Injektion
C/VII	5,95	5,70	Injektion
U/VII	8,70	8,85	Injektion
V/VII	9,10	10,60	Injektion
B/VIII	10,00	9,90	Infusion
Σ	44,15	45,55	
N=5			
$\bar{x}$	8,83	9,11	

Tab. 7: Volumensekretion nach Injektion und Infusion von Secretin (gleiche Dosen) in einen Seitenast der A. pancreatico-duodenalis superior und in die V. femoralis.

Hund	Protein (mg/20min)		Verabreichungs- art
	i.v. femoralis	i.a. pancreatico.	
D/IX	32,14	44,18	Injektion
	78,93	94,29	Injektion
M/IX	45,70	50,42	Infusion
	70,00	80,70	Infusion
N/IX	8,34	11,18	Injektion
O/IX	159,59	175,39	Injektion
Σ	394,70	456,16	
N=6			
	$p < 0,01$		
$\bar{x}$	65,78	76,03	

Tab. 8: Proteinsekretion nach Injektion und Infusion von Cholecystokinin (gleiche Dosen) in einen Ast der A. pancreaticoduodenalis superior und in die V. femoralis.

Hund	Volumen (ml)		Verabreichungs- art
	i.v. femoralis	i.v. portae	
B/VII	8,35	7,90	Injektion
C/VII	5,95	4,55	Injektion
S/VII	3,55	3,85	Injektion
U/VII	4,65	4,25	Injektion
V/VII	5,50	4,45	Injektion
W/VII	7,90	7,55	Injektion
Y/VII	3,00	1,60	Infusion
Z/VII	5,55	5,65	Infusion
B/IX	5,00	4,05	Injektion
Σ	49,45	43,85	
N=9	$p < 0,02$		
$\bar{x}$	5,49	4,89	

Tab. 9: Volumensekretion nach Injektion und Infusion von Secretin (gleiche Dosen) in die V. portae und in die V. femoralis.

Hund	Protein (mg/20min)		Verabreichungs- art
	i.v. femoralis	i.v. portae	
X/VIII	27,20	25,88	Injektion
Y/VIII	18,00	21,60	Infusion
	17,60	22,60	Infusion
B/IX	49,90	39,30	Injektion
	81,40	70,90	Injektion
D/IX	32,14	31,19	Injektion
	43,38	39,56	Injektion
K/IX	24,96	24,58	Infusion
	66,96	66,71	Infusion
Σ	361,54	344,32	
N=9	$p < 0,3$		
$\bar{x}$	40,17	38,26	

Tab. 10: Proteinsekretion nach Injektion und Infusion von Cholecystokinin (gleiche Dosen) in die V. portae und in die V. femoralis.

Hund	V o l u m e n	
	i.v. femoralis (ml)	i.a. renalis (ml)
B/VII	8,35	2,90
	10,40	4,25
D/VII	13,50	0,65
	17,25	4,00
E/VII	14,15	6,10
F/VII	12,90	2,00
	20,85	10,00
L/VII	10,60	3,90
	14,40	6,70
M/VII	13,50	5,50
	22,40	11,20
N/VII	10,30	5,70
O/VII	15,70	4,80
Q/VII	15,50	8,00
P/VIII	10,10	1,40
Σ	209,90	77,10
N=15	$p < 0,001$	
$\bar{x}$	13,99	5,14

Tab. 11: Volumensekretion nach Injektion von Secretin (gleiche Dosen) in die A. renalis und in die V. femoralis.

Hund	Aktivität nach i.a. renalis %
B/VII	25
D/VII	16
E/VII	23
F/VII	16
G/VII	14
I/VII	14
L/VII	19,5
M/VII	44
N/VII	29
O/VII	37
P/VII	31
Q/VII	35
P/VIII	30
Σ	333,5
N=13	
$\bar{x}$	25,8

Tab. 12: Verbleibende Aktivität von Secretin
nach Injektion in die A. renalis
(Aktivität nach Injektion in die
V. femoralis = 100 %).

Hund	Trypsinmenge	
	i.v. femoralis IU/20min	i.a. renalis IU/20min
Q/VIII	54,5	26,7
	122,6	70,6
R/VIII	99,8	12,0
	126,7	33,0
S/VIII	231,2	143,9
	89,9	54,8
T/VIII	262,4	108,3
	56,8	26,1
U/VIII	125,4	38,5
	103,8	17,6
V/VIII	200,1	49,3
	6,7	3,1
J/IX	42,1	18,5
	83,0	42,8
L/IX	198,8	121,2
Σ	1803,8	766,4
N=15	$p < 0,001$	
$\bar{x}$	120,3	51,1

Tab. 13: Trypsinmenge nach Injektion von Cholecystokinin (gleiche Dosen) in die A. renalis und in die V. femoralis.

Hund	% Aktivität nach i.a. renalis
Q/VIII	61
R/VIII	41
S/VIII	53
T/VIII	50
U/VIII	29
V/VIII	18
J/IX	50
L/IX	53
Σ	355
N=8	
$\bar{x}$	44,4

Tab. 14: Verbleibende Aktivität von
Cholecystokinin nach Injektion
in die A. renalis (Aktivität
nach Injektion in die V. femoralis
= 100 %).

Infusion von Secretin in die V. femoralis		
Sekretionsrate (ml/min)		
Hund	vor Ligatur	nach Ligatur
Q/VII	0,60	0,80
F/VIII	0,46	0,71
I/VIII	0,15	0,25
L/VIII	0,30	0,55
M/VIII	0,05	0,12
W/VIII	0,25	0,42
A/IX	0,40	0,70
B/IX	0,33	0,60
C/IX	0,16	0,30
E/IX	0,35	0,77
F/IX	0,30	0,52
I/IX	0,40	0,80
N/IX	0,24	0,41
Σ	3,99	6,95
N=13	$p < 0,001$	
$\bar{x}$	0,31	0,53

Tab. 15: Volumensekretionsrate nach Infusion von Secretin (gleiche Dosen) in die V. femoralis vor und nach Unterbindung der Aa. und Vv. renales beidseits.

Injektion von Secretin in die V. femoralis		
Volumen (ml)		
Hund	vor Ligatur	nach Ligatur
C/VIII	3,50	6,30
	7,10	9,60
F/VIII	4,90	6,20
	12,30	15,00
H/VIII	4,00	6,30
	6,30	9,20
I/VIII	2,60	5,35
	3,90	8,80
L/VIII	10,90	13,60
B/IX	4,00	5,00
Σ	59,50	85,35
N=10	$p < 0,001$	
$\bar{x}$	5,95	8,54

Tab. 16: Volumensekretion nach Injektion von Secretin (gleiche Dosen) in die V. femoralis vor und nach Unterbindung der Aa. und Vv. renales beidseits.

Relative Wirksamkeit von Secretin (%)		
Hund	nach Ligatur	Verabreichungsart
C/VIII	176	Injektion
F/VIII	140	Injektion
H/VIII	138	Injektion
I/VIII	300	Injektion
B/IX	140	Injektion
F/VIII	205	Infusion
M/VIII	140	Infusion
C/IX	140	Infusion
E/IX	172	Infusion
F/IX	230	Infusion
Σ	1781	
N=10		
$\bar{x}$	178,1	

Tab. 17: Relative Wirksamkeit (%) von Secretin nach Injektion und Infusion des Hormons in die V. femoralis nach Unterbindung der Aa. und Vv. renales beidseits (Aktivität vor Unterbindung = 100 %).

Cholecystokinin in die V. femoralis			
Hund	Protein (mg/20min)		Verabreichungsart
	vor Ligatur	nach Ligatur	
C/IX	100,50	120,20	Injektion
E/IX	86,29	110,88	Injektion
	219,63	238,66	Injektion
F/IX	138,60	158,13	Injektion
G/IX	83,12	102,91	Injektion
I/IX	15,81	25,18	Injektion
	32,92	48,65	Injektion
Z/VIII	21,04	26,16	Infusion
H/IX	41,48	66,72	Infusion
	114,24	132,88	Infusion
P/IX	58,20	85,76	Infusion
Σ	911,83	1116,13	
N=11	$p < 0,001$		
$\bar{x}$	82,89	101,47	

Tab. 18: Proteinsekretion nach Injektion und Infusion von Cholecystokinin (gleiche Dosen) in die V. femoralis vor und nach Unterbindung der Aa. und Vv. renales beidseits.

Aktivität von Cholecystokinin (%)		
Hund	nach Ligatur	Verabreichungsart
C/IX	130	Injektion
E/IX	116	Injektion
F/IX	120	Injektion
G/IX	158	Injektion
I/IX	145	Injektion
Z/VIII	180	Infusion
H/IX	200	Infusion
P/IX	140	Infusion
Σ	1189	
N=8		
$\bar{x}$	148,6	

Tab. 19: Aktivität von Cholecystokinin nach Injektion und Infusion des Hormons in die V. femoralis nach Unterbindung der Aa. und Vv. renales beidseits (Aktivität vor Unterbindung = 100 %).

Mittlere Halbwertszeiten $T_{\text{halb(m)}}$ (min)		
Hund	vor Ligatur	nach Ligatur
F/VIII	2,2	3,3
H/VIII	3,1	6,2
I/VIII	3,3	5,3
B/IX	2,8	4,2
Σ	11,4	19,0
N=4		
$\bar{x}$	2,85	4,75

Tab. 20: Veränderung der mittleren Halbwertszeit von Secretin nach Ligatur der Aa. und Vv. renales beidseits.

Hund	Halbwertszeiten (min)			
	vor	nach	vor	nach
	Ligatur	Ligatur	Ligatur	Ligatur
	g_1	$g_{1'}$	g_2	$g_{2'}$
F/VIII	0,90	1,20	2,20	3,15
H/VIII	1,10	2,10	3,20	5,30
I/VIII	1,50	2,10	4,30	6,50
B/IX	1,00	1,45	2,90	4,30
Σ	4,50	6,85	12,60	19,25
N=4				
$\bar{x}$	1,13	1,71	3,15	4,81

Tab. 21: Veränderung der Halbwertszeit von Secretin nach Ligatur der Aa. und Vv. renales beidseits. Im linken Teil der Tabelle sind die Zeitwerte für den steilen Anfangsteil der Kurve (g_1 bzw. $g_{1'}$), im rechten Teil die flache Komponente (g_2 bzw. $g_{2'}$) aufgeführt.

7. LITERATURVERZEICHNIS

- AGREN, G., and HAMMERSTEN, E.: The behaviour of crystallized secretin when digested with proteolytic enzymes. *J. Physiol.* 90, 330-334 (1937)
- ASCH, L. et WARTER, J.: Role du rein dans le métabolisme des hormones proteiques. *Path. Biol.* 15, 773-780 (1967)
- BABKIN, B.P.: Secretory mechanism of the digestive glands. 2nd ed. New York: Hoeber 1950
- BAYLISS, W.M. and STARLING, E.H.: The mechanism of pancreatic secretion. *J. Physiol. (London)* 28, 325-353 (1902)
- BERRY, H.; M.B., and FLOWER, R.J.: The assay of endogenous cholecystokinin and factors influencing its release in the dog and cat. *Gastroenterology* 60, 409-420 (1971)
- BODANSKY, A., ONDETTI, M.A., MUTT, V., and BODANSKY, M.: Synthesis of secretin. IV. secondary structure in an miniatur protein. *J. Am. Chem. Soc.* 91, 944-949 (1969)
- BRIDGEWATER, A.B., KUROYANAGI, Y., CHILES, Th., and NECHELES, H.: Secretin inactivating enzyme in liver. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 110, 852-855 (1962)
- BRIDGEWATER, A.B., KUROYANAGI, Y., GEISEL, T., and NECHELES, H.: Pancreocymen-cholecystokinin injected by portal and systemic routes. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 112, 1056-1058 (1963)
- BUSSOLATI, G., CAPELLA, C., SOLCIA, E., VASSALLO, G., and VEZZADINI, P.: Ultrastructural and immunofluorescent investigations on the secretin cell in the dog intestinal mucosa. *Histochem.* 26, 218-227 (1971)
- CARONE, F.A.: Micropuncture and morphologic study of protein excretion in normal and urinium treated proteinuric rats. *Fed. Proc.* 25, 428 (1966)
- CHEY, W.Y., HENDRICKS, J., and LORBER, S.H.: Inactivation of secretin by the liver. *Clin. Res.* 19, 389 (1971)
- CLARK, D.G., GREENWELL, J.R., HARPER, A.A., SANKEY, A.M. and SCRATCHERD, T.: The electrical properties of resting and secreting pancreas. *J. Physiol.* 189, 247-260 (1967)
- CLENDINNEN, B.G., DAVIDSON, W.D., LEMMI, C.A.E., JACKSON, B.M., and THOMPSON, J.C.: Renal uptake and excretion of gastrin in the dog. *Gastroenterology* 58, 935 (1970)

- CLENDINNEN, B.G., DAVIDSON, W.D., REEDER, D.D., JACKSON, B.M. and THOMPSON, J.C.: Renal uptake and excretion of gastrin in the dog. *Surg. Gyn. OB* 132, 1039-1043 (1971)
- CORTNEY, M.A., SAWIN, L.L., and WEISS, D.D.: Renal tubular protein absorption in the rat. *J. Clin. Invest.* 49, 1-4 (1970)
- COX, R.W., HENLEY, E.D., NARAHARA, H.T., VANARSDDEL, P.P., and WILLIAMS, R.H.: Studies on the metabolism of glucagon- J^{131} in rats. *Endocrinology* 60, 277-284 (1957)
- DAVIDSON, W.D., SPRINGBERG, P.D., and FALKINBURG, N.R.: Renal extraction and excretion of endogenous gastrin in the dog. *Gastroenterology* 64, 955-961 (1973)
- DOST, F.H.: *Grundlagen der Pharmakokinetik* (Thieme, Stuttgart 1968)
- DOUBILET, H.: Separation and assay of secretin and cholecystokinin. *Gastroenterology* 7, 108-117 (1946)
- FAWCETT, A.N.: The relationship between flow and electrolyte secretion in the canine pancreas. *Gut* 11, 700-708 (1970)
- GRAY, W.R.: Dansyl Chloride procedure, in *methods in enzymology*. 11, 139-151, edit. by S.P. Colowick and N.O. Kuplan, New York and London, Acad. Press 1967
- GREENGARD, H., STEIN, I.F., and IVY, A.C.: Secretinase in blood serum. *Am. J. Physiol.* 133, 121-127 (1941a)
- GREENGARD, H., STEIN, I.F., and IVY, A.C.: Modification of the pancreatic response to secretin by urine and urine concentrates. *Am. J. Physiol.* 134, 245-250 (1941b)
- GREENGARD, H., STEIN, I.F., and IVY, A.C.: The enzymatic inactivation of cholecystokinin by blood serum. *Am. J. Physiol.* 134, 733-738 (1941c)
- GREENGARD, H., GROSSMAN, M.I., WOOLEY, J.R., and IVY, A.C.: A confirmation of the presence of pancreozymin in the duodenal mucosa. *Science* 99, 350-351 (1944)
- GROSSMANN, M.I.: The physiology of secretin. In: *Vitamins Hormones* (NY) 16, 179-203 (1958)

- GROSSMAN, M.I.: Structure of secretin. *Gastroenterology* 57, 610-611 (1969)
- GROSSMANN, M.I.: Control of pancreatic secretion. In: I.T. Beck and D.G. Sinclair (Eds.). *The exocrine pancreas* London: Churchill 1971
- HARPER, A.A., and RAPER, H.S.: Pancreozymin, a stimulant of the secretion of pancreatic enzymes in extracts of the small intestine. *J. Physiol.* 102, 115-125 (1943)
- HARPER, A.A.: Hormonal control of pancreatic secretion. In: C.F. Code and W. Heidel (Eds.). *Handbook of Physiology*, Section 6, Vol. II, Secretion. Washington DC: American Physiological Society 1967
- HARTIALA, K., and GERSHBEIN, L.L., Studies on the inactivation of pancreozymin concentrates. *Acta endocrinologica* 63, 519-526 (1970)
- HAVERBACK, B.J., DYCE, B., BUNDY, H., and EDMONDSON, H.A.; Trypsin, trypsonogen and trypsin inhibitor in human pancreatic juice, *Amer. J. Med.* 29, 424-433 (1960)
- HEIDBERGER, E., ECKLE, A., HENNEMANN, H. und HEIDLAND, A.: Ausscheidung mono- und bivalenter Ionen im Pankreassaft bei experimenteller Urämie. Untersuchungen an 5/6 nephrektomierten Ratten. *Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für innere Medizin*. 78. Band by J.F. Bergmann, München 1972
- HELLMANN, G.: Der Einfluß von Gallensalzen auf die exokrine Sekretion des Pankreas beim Schwein. Dissertation, I. Med. Fakultät der Universität München: 1970
- HICKSON, J.C.D.: The secretory and vascular response to nervous and hormonal stimulation in the pancreas of the pig. *J. Physiol. (London)* 206, 299-322 (1970)
- HUBEL, K.A.: Secretin, a long progress note. *Gastroenterology* 62, 318-341 (1972)
- IVY, A.C., and OLDBERG, E.: A hormone mechanism for gallbladder contraction and evacuation. *Amer. J. Physiol.* 86, 599-613 (1928)
- JORPES, J.E., MUTT, V., MAGNUSSON, S., and STEELE, B.B.: Aminoacid composition and N-terminal aminoacid sequence of porcine secretin. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 9, 275-279 (1962)

- JORPES, J.E., and MUTT, V.: Cholecystokinin and pancreozymin, one single hormone? *Acta Physiol. Scand.* 66, 196-202 (1966)
- JORPES, J.E., and MUTT, V.: Cholecystokinin (CCK), Physiologie und klinische Anwendung. *Klin. Wschr.* 48, 65-70 (1970)
- KIBRICK, A.C., and CLEMENTS, A.B.: A comparative study of the serum albumin-globulin ratio, the cephalin-cholesterol flocculation, and the thymol turbidity tests for liver function. *J. Lab. clin. Med.* 33, 662-671 (1948)
- LAGERLÖF, H.O.; EK, S.Y., and NYBERG, A.: The duodenal secretion in man as a function of secretin dose and secretin inactivation. *Gastroenterology* 43, 174-180 (1962)
- LEHNERT, P., STAHLHEBER, H., FORELL, M.M., DOST, F.H., FRITZ, H., HUTZEL, M. und WERLE, E.: Bestimmung der Halbwertszeit von Secretin. *Klin. Wschr.* 47, 1200-1204 (1969)
- LEHNERT, P.: Studien zur Physiologie des exokrinen Pankreas. Dissertation, I. Med. Fakultät der Universität München (1970a)
- LEHNERT, P., STAHLHEBER, H., FORELL, M.M., DOST, F.H., FRITZ, H., HUTZEL, M. und WERLE, E.: Bestimmung der Halbwertszeit von Cholecystokinin. *Hoppe-Seyler's Physiol. Z. Chem.* 351, 983-989 (1970b)
- LEHNERT, P., STAHLHEBER, H., FORELL, M.M., FRITZ, H. und WERLE, E.: Kinetics of exocrine pancreatic secretion. *Digestion* 6, 9-22 (1972)
- LEHNERT, P., STAHLHEBER, H., RODER, O., ZOELCH, M. FORELL, M.M., WÜNSCH, E., JAEGER, E. und MARTENS, H.L.: Bestimmung der biologischen Aktivität von synthetischem Secretin *Klin. Wschr.* 51, 44-46 (1973)
- MAACK, Th., and KINTER, W.B.: Transport of protein by flounder kidney tubules during long-term incubation. *Am. J. Physiol.* 216, 1034-1043 (1969)
- MAKHLOUF, G.M.: Calculation of half life of gastrointestinal hormones from dose-response and time-response curves in man. *Gastroenterology* 62, 695-697 (1972)
- MILLER, A.T., HALE, D.M., and ALEXANDER, K.D.: Histochemical studies on the uptake of horseradish peroxidase by rat kidney slices. *J. Cell. Biol.* 27, 305-312 (1965)

- MUTT, V., and JORPES, J.E.: Secretin, cholecystokinin. In: International symposium on the pharmacol. of hormonal polypeptides and proteins, Milan, Italy 1967. New York: Plenum, Press 1968 (a)
- MUTT, V., and JORPES, J.E.: Structure of porcine cholecystokinin/pancreozymin. 1. Cleavage with thrombin and with trypsin. European. J. Biochem. 6, 156-162 (1968b)
- MUTT, V., and JORPES, J.E.: The nature of secretin and cholecystokinin/pancreozymin. In: I.T. Beck and D.G. Sinclair (Eds.) The exocrine pancreas. London: Churchill 1971 (a)
- MUTT, V., and JORPES, J.E.: Hormonal polypeptides of the upper intestine. Biochem. J. 125, 57-58 (1971b)
- NARAHARA, H.T., and WILLIAMS, R.H.: Degradation of glucagon-J¹³¹ by rat tissues in vitro. Endocrinology 60, 285-289 (1957)
- NARDI, G.L., GREEP, J.M., CHAMBERS, D.A., McCRAEC, and SKINNER, D.B.: Physiologic peregrinations in pancreatic perfusion. Surgery 158, 830-839 (1963)
- NECHELES, H., OGAWA, T., CHILES, Th., and LEVINSON, M.: Effect of secretin into portal or peripheral vein. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 102, 110-112 (1959)
- NEWTON, W.T., and JAFFE, B.M.: The fate of intravenously administered radiolabeled gastrin. Surgery 69, 34-40 (1971)
- PETERSON, H.: The effect of pure natural secretin on the bicarbonate secretion into the duodenum in man Scand. J. Gastroent. 5, 105-111 (1970)
- POLAK, J.M., BLOOM, S., COULLING, I., and PEARSE, A.G.E.: Immunfluorescent localization of secretin in the canine duodenum. Gut 12, 605-610 (1971)
- PRESHAW, R.M., and GROSSMAN, M.I.: Stimulation of pancreatic secretion by extracts of the pyloric gland area of the stomach. Gastroenterology 48, 36-44 (1965)
- REEDER, D.D., JACKSON, B.M., BRANDT, E.N., Jr., and THOMPSON, J.C.: Rate and pattern of disappearance of exogenous gastrin in dogs. Amer. J. Physiol. 222, 1571-1574 (1972)

- ROGERS, G.E.: Enzymatic inactivation of secretin. *Nature* 167, 771-772 (1951)
- ROYCE, P.C.: Characterisation of the renal dependent rat serum protein. *Am. J. Physiol.* 215, 1429-1434 (1968)
- SCRIBNER, B.H., and CAILLOUETTE, J.C.: Improved method for the bedside determination of bicarbonate in serum. *J. Amer. med. Ass.* 155, 644-648 (1954)
- SKILLMAN, J.J., SILEN, W., and HARPER, H.A.: Role of the liver in secretin inactivation. *Am. J. Physiol.* 202, 347-348 (1962)
- STENING, G.F., and GROSSMAN, M.I.: Hormonal control of Brunner's glands. *Gastroenterology* 56, 1047-1057 (1969)
- STRAUS, W.: Cytochemical observations on the relationship between lysosomes and phagosomes in kidney and liver by combined staining for acid phosphatase and intravenously injected horseradish peroxidase. *J. Cell. Biol.* 20, 497-507 (1964)
- SVATOS, A., and QUEISNEROVA, M.: Comparative electrophoretic study of pancreozymin and uropancreozymin. *Gastroenterology* 94, 290-294 (1960)
- VAN LIEW, J.B., STOLTE, H., and BOYLAN, J.W.: Micropuncture studies of proximale tubular protein reabsorption in normal and hypertrophied rat kidney. *Fed. Proc.* 26, 375 (1967)
- VAN LIEW, J.B., BUENTIG, W., STOLTE, H., and BOYLAN, J.W.: Protein excretion micropuncture study of rat capsular and proximal tubule fluid. *Am. J. Physiol.* 219, 299-305 (1970)
- WAY, L.W., JOHNSON, L.R., and GROSSMAN, M.I.: Comparison of pancreatic response to portal and systemic venous administration of secretin, cholecystokinin and caerulein. *Fed. Proc.* 28, 274 (1969)
- WEBER, E.: *Grundriß der biologischen Statistik*, 5. Auflage. Jena: Gustav Fischer 1964

- WEBER, H.: Mikromethode zur Bestimmung der Pankreaslipase im Serum. Dtsch. med. Wschr. 90, 1170-1174 (1965)
- ZAHARKO, D.S., BECK, L.V., and BLANKENBAKER, R.: Role of the kidney in the disposal of radioiodinated and nonradioiodinated insulin in dogs. Diabetes 15, 680-685 (1966)

Herrn Prof. Dr. M. M. Forell möchte ich für die Überlassung des Themas und die großzügige Unterstützung meiner Arbeit herzlich danken.

Herrn Prof. Dr. Dr. E. Werle, vormaliger Vorstand des Instituts für Klinische Chemie und Klinische Biochemie der Universität München, und Herrn Prof. Dr. H. Fritz, kommissarischer Direktor desselben Instituts, bin ich wegen seines Entgegenkommens, die tierexperimentellen Untersuchungen in seinem Institut durchführen zu dürfen, zu großem Dank verpflichtet. Bei Herrn M. Hutzl bedanke ich mich für Anleitung und Hilfe bei den Operationen.

Mein besonderer Dank gilt den Herren Dr. P. Lehnert und Dr. H. Stahlheber für die stete Förderung meiner Arbeit und die wissenschaftliche Anleitung.

Frau H. Kretschmann und Frl. E. Hotz danke ich für die technische Assistenz.

LEBENS LAUF

Ich wurde am 27. Dezember 1948 als Sohn des praktischen Arztes Dr. med. Wolfgang Füllner und seiner Frau Viktoria geborene Geiß in Eschwege geboren.

Nach 4 Jahren Volksschule besuchte ich von 1959 an das Kepler-Gymnasium in Ulm, an dem ich am 15. 6. 1967 mein Abitur ablegte.

Im Sommersemester 1969 begann ich das Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität in München, an der ich nach dem Wintersemester 1969/70 die naturwissenschaftliche Vorprüfung, nach dem Sommersemester 1971 die ärztliche Vorprüfung und nach dem Sommersemester 1974 die ärztliche Prüfung ablegte.

